

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

T 1017/L-4

**SÜREKLİ AYAKTAN PERİTON DİYALİZİ
HASTALARINDA İNTRAPERİTONEAL OTOLOG
KRİYOPRESİPİTAT UYGULANIMININ
DİYALİZAT FAGOSİT FONKSİYONLARI ÜZERİNE
ETKİSİ**

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

Uzmanlık Tezi

Dr.Hakan Ş.BOZCUK

Tez Danışmanı : Doç.Dr.Fevzi ERSOY

"Tezinden Kaynakça Gösterilerek Faydalanılabilir"

Antalya, 1996

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince esirgemediği yardımları için Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof.Dr.Gülşen YAKUPOĞLU'na, tezimin her aşamasındaki değerli yardım ve katkıları nedeniyle tez danışmanım Sayın Doç.Dr.Fevzi ERSOY'a, istatistik analizdeki yardımları için Sayın Prof.Dr.Levent ÜNDAR ve Sayın Doç.Dr.Mustafa Kemal BALCI'ya, İmmünolojik değerlendirmelerdeki katkılarından dolayı Sayın Mesut COŞKUN ve tüm İmmünoloji Laboratuvarı çalışanlarına, gene yardımlarından ötürü SAPD hemşileri Sayın Sadife ÖZCAN ve Jale ERTÜRK'e, Özel Hematoloji Laboratuvarı sorumlusu Sayın Firuzan ÖZTÜRK'e ve tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Sayın Dr.Mehmet MEKİÇ'e en içten duygularla teşekkürü bir borç bilirim

Dr.Hakan Ş. BOZCUK
Antalya, 1996

İçindekiler

	<u>Sayfa No</u>
Giriş ve Amaç	1 - 2
Genel Bilgiler	3 - 14
Hastalar ve Metod	15 - 20
Bulgular	21 - 31
Tartışma	32 - 38
Sonuçlar	39 - 40
Özet	41 - 42
Kaynaklar	43 - 49

GİRİŞ VE AMAÇ

Son dönem böbrek yetmezliğinin tedavisinde Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi (SAPD), 1978 yılında Popovich ve arkadaşları tarafından yeni bir metod olarak tıp dünyasına sunulmuştur (1). SAPD tedavisinde periton diyalizine 24 saat boyunca devam edilmekte ve diyalizat genellikle günde 4 kez periton boşluğuna infüze edilmektedir (2). Günümüze değin "standart" kateter sistemlerinden "disconnect" kateter sistemlerine geçiş olmasına ve daha etkin antimikrobiale ajanların keşfine rağmen SAPD peritoniti halen sık rastlanan ve önemli bir SAPD tedavi komplikasyonudur. Özellikle rekürren peritonitli SAPD hastalarının (tüm SAPD peritoniti olgularının % 15-25'i) tedavisinde halen güçlüklerle karşılaşmaktadır. 1990 Amerikan SAPD Ulusal Enstitü Yıllığına göre peritonit sıklığı yılda 1.4 atak olarak belirtilmektedir (3).

Bazı SAPD hastalarında diyalizatta canlı mikroorganizma gösterilmesine rağmen (tüm diyalizatların % 7'si), klinik olarak peritonit oluşmaması, SAPD hastalarında peritonit gelişmesinde immün mekanizmaların oldukça önemli rol oynadığını düşündürmektedir (3,4,8).

SAPD peritonitinin immünolojik yönleriyle ilgili yapılan çalışmalar SAPD hastalarında opsonizasyon (4,5,7,8,9,10), fagositoz (4,5,8) ve kemotaksiste (4,6) azalma olduğunu göstermektedir. İn vitro opsonizasyonu arttırıcı çalışmalar özellikle diyalizat hücre fagositozunun da buna bağlı olarak arttığı sonucunu ortaya çıkarmıştır (8,20,22,23,24). Bu nedenle immünoterapi ve immünoprolaksi SAPD peritonitinin

engellenmesi ve tedavisinde üzerinde önemle durulan konular haline gelmiş; intraperitoneal gammaglobulin ve stafilokokkal aşuların SAPD peritonitini engellediğini gösteren çalışmalar yayınlanmıştır (4,7).

Fibronektin de, SAPD hastalarında peritoniti engelleyici mekanizmalar içinde rol oynadığı düşünülen bir opsonindir (4,7,13,16,18,20,25,26) ve opsonin olma dışında başka biyolojik aktif rolleri tariflenmiştir (11,12,14,15,17,19,21,25). SAPD hastalarında, peritonit-immünite ilişkisi içinde fibronektinin rolünü sorgulayan in vivo bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır.

Bu çalışma fibronektinin otolog kriopresipitat şeklinde intraperitoneal olarak uygulanmasının diyalizat savunma hücrelerinin fonksiyonlarına olan etkisinin incelenmesi amacıyla planlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Kronik böbrek yetmezliği tedavisinde sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) ve değişik otomatize periton diyalizi türleri kabul gören tedavi yaklaşımlarıdır (3,4). SAPD'de en önemli morbidite sebebi peritonittir. US 1989 Ulusal Bildirgesine göre peritonit insidansı 1.4 peritonit epizodu/yıl'dır (4). Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi SAPD Polikliniğinde izlenen hastalarda da peritonit sıklığı 1 peritonit epizodu/yıl'dır (1995-1996, yayınlanmamış veri, Doç.Dr.F.Ersoy).

SAPD peritoniti için rapor edilen risk faktörleri Diabetes Mellitus, yaş (40 yaşından küçük olma) ve ırk (zenci)'tir (4). Birinci nesil bağlantı sistemleri kullanan SAPD hastalarında iki yıla varan süreli izlemlerde peritonite rastlanmamış olması ve en az iki çalışmada klinik olarak peritoniti olmayan SAPD hastalarının diyalizatlarının % 7'sinde üreme olması, aktif olarak immünolojik yoldan görev yapan bir periton savunma sisteminin var olduğu fikrini doğurmuştur (4).

İlk olarak 1983 yılında Verbrugh ve arkadaşları tarafından tanımlanan diyalizat opsonik aktivitesi ve lökosit içeriği, zamanla "*konakçı ilk savunma sistemi*" kavramını oluşturmuş, bu kavramda esas önem opsonofagositik sisteme verilmiştir (9).

PERİTONUN SAVUNMA MEKANİZMALARI

Periton patojenlerle esas olarak 3 yolla başeder ;

1. Serbest ve fagosite edilmiş mikroorganizmaların lenfatikler yolu ile uzaklaştırılması,

2. Fibrin ile hapsedilme ve yapışıklık oluşturulması,
3. Periton sıvısının antibakteriyel öğeleri; esas olarak fagositler ve opsoninler (4).

Mikropların hapsedilmesi ve uzaklaştırılması

Bakteriyel olmayan serosit ve SAPD peritonitinde enflamatuar cevap olarak fibrin üretimi (fibrinojenez) makroskopik olarak enfekte diyalizatta göz ile, mikroskopik olarak periton biopsisinin elektron mikroskobu ile incelenmesiyle görülebilir (27). Diyalizatta fibrinojen, tromboplastin ve pıhtılaşma proteinlerinin dilue olmasına rağmen yukarıda bahsedilen bulgular, periton diyalizinde kontamine eden mikroorganizmaların fibrinle hapsedilmesinin konakçı ilk savunma sisteminde rol oynadığını düşündürmektedir.

SAPD'de lenfatik uzaklaştırımın, total periton hacminin en fazla % 5-10 kadarının lenfatikler aracılığı ile emilebilmesi nedeniyle, önemli rolü olduğu düşünülmemektedir (4).

SAPD'de diğer bir mikroorganizma uzaklaştırım yolu da diyalizat drenajıdır (28).

Opsonizasyon, fagositoz ve hücre içi öldürme

Periton diyalizinde konakçı ilk savunma sisteminde şu elemanlar bulunmaktadır ;

1. Bakterilerin IgG, C₃, fibronektin ile opsonizasyonu,
2. LTB₄ ve C_{5a} gibi kemotaktik faktörlerin oluşması ve makrofajların bakteriyel hasarın olduğu yere göçü,
3. Reseptöre bağımlı olarak tutunmanın gerçekleşmesi ve fagositoz,
4. Oksidatif ve oksidatif olmayan yollarla hücre içi öldürmenin gerçekleşmesi (4).

Opsonizasyon

IgG, normal periton sıvısında ve SAPD diyalizatında bulunan primer immünoglobulindir. Normal periton sıvısı IgG düzeyleri plazma için bildirilen değerlerle benzerdir (ort. 1250 mg/dl). SAPD diyalizatında ise dilusyon nedeniyle 2 - 50 mg/dl civarında bulunur. IgG, değişik opsonik ve kompleman bağlayıcı özelliklere sahip 4 alt gruptan oluşur (IgG₁'den IgG₄'e kadar). Bu gruplar arasındaki bir dengesizlikle peritonit insidansı arasında bir ilişki gösterilememiştir (29). SAPD diyalizatında

normal periton sıvısı ve plazmaya göre oldukça az miktarda C₃ bulunur (80 mg/dl'ye karşın 1-3 mg/dl). Fibronektin de SAPD hastalarında plazmaya göre diyalizatta oldukça seyrelmiştir (245 µg/ml'ye karşı 1-5 µg/ml) (4,7).

Periton opsoninleri ve peritonit ilişkisi ile ilgili olarak çeşitli gruplar periton diyalizatının normal periton sıvısı veya % 100 serum ile karşılaştırıldığında çok daha düşük opsonik aktivite içerdiğini göstermişlerdir (9,30,31). Genelde üzerinde görüş birliğine varılmış bir konu da diyalizat opsonin konsantrasyonu ile peritonit sıklığı arasında ters bir ilişki olduğudur, ancak bu konuda tam bir görüş birliği olduğunu söylemek mümkün değildir; Keane 1984'de opsonik aktiviteyi ve IgG'yi, Steen 1986'de opsonik aktiviteyi, Lamperi 1986'da gene opsonik aktiviteyi, Goldstein 1986'da fibronektini, Coles 1987'de opsonik aktivite, IgG ve C₄'ü, McGregor 1987'de opsonik aktiviteyi, Bennett-Jones 1987'de IgG'yi, Olivas 1990'da gene IgG'yi, Kuroda 1992'de IgG, IgM, IgA, C₃'ü peritonitle ilişkili bulurken, Steen 1986'da IgG ve C₃'ü, Goodship 1986'da IgG'yi, Khan 1987'de fibronektini, Zemel 1990'da IgG'yi, De Vecchi 1990'da gene IgG'yi, Gordon 1990'da opsonik aktiviteyi, Nagano 1992'de IgG'yi peritonitle ilişkisiz bulmuşlardır (4). Bu karışıklığın muhtemel birtakım sebepleri mevcuttur :

1. IgG - total opsonik aktivite : Coles ve arkadaşları düşük IgG düzeyine rağmen peritonit geçirmeyen bir grup hasta tanımlamışlardır (10). Bu da tek başına IgG düzeyinin peritonit riskini göstermek açısından çok anlamlı olmadığını düşündürmüştür. Fibronektin, C_{3b}, C_{3bi} gibi diğer opsoninler (özellikle fibronektin hem doğrudan bir opsonin olarak görev görmekte, hem de F_c ve C_{3b} reseptörleri aracılığı ile olan fagositozu arttırmaktadır) verimli bir mikrobik opsonizasyon için gereklidir. IgG ve C₃ seviyelerinin beraberce düşük olduğu olgularda peritonit riski en yüksektir (31).
2. Non-opsonik fagositoz : S.aureus, E.coli, Pseudomonas aerigonosa gibi bazı mikropların fagositozu için opsonizasyona gerek olmayabilir, bu hücre duvarı proteinleri ve makrofaj yüzeyindeki IgG molekülleri (sitofilik IgG) (9) veya Tip I fimbriyalardaki lektin, makrofaj yüzeyindeki nannosyl/fucosyl reseptörleri etkileşimi (lektinofagositoz) aracılığı ile olabilir (32).

Periton makrofajları

Enfekte olmayan SAPD hastalarında diyalizat 1-3 litre olup, toplam hücre içeriği $1-45 \times 10^6$ 'dır (33). Zamanla SAPD'de hücre verimi düşmekle birlikte, diyalizat hücre verimi veya diyalizat hücre diferansiyelleri ile peritonit riski arasında ilişki gösterilememiştir. SAPD diyalizatında % 20- 95 makrofaj, % 2-84 lenfosit, % 0-27 nötrofil bulunmaktadır (33).

Periton makrofajlarının in vitro fagositoz ve bakterisidal yetenekleri tüm SAPD hastalarında veya yüksek peritonit indeksli (high peritonitis index ; HPI) ve düşük peritonit indeksli (low peritonitis index; LPI) SAPD hastalarında incelenmiş ve birbirleriyle oldukça çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Yukarıdaki parametrelerin arttığını ve azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Lamperi ve ark. (35), McGregor ve ark. (34), Betjes ve ark. (6) HPI ve LPI gruplarında periton makrofajlarının fagositik kapasiteleri arasında fark bulamazken, Carozzi ve ark. HPI grubunda periton makrofajlarının fagositoz yeteneğinin azaldığını öne sürmüşlerdir (36).

Tüm SAPD hastalarını inceleyen çalışmalar diyalizat fagositlerinin genel olarak aktive oldukları öne sürmüşlerdir (37,81). Verbrugh ve ark.(9) SAPD hastalarında normal bakterisidal kapasite saptarken Mc Gregor ve ark., bakterisidal kapasitede azalma saptamışlardır. Lamperi ve ark. ve Lin ve ark. HPI grubunda periton makrofajların bakterisidal kapasitenin LPI grubuna göre azaldığını, tersine Mc Gregor ve ark. peritonit insidansı ile bakterisidal kapasite arasında bir ilişki olmadığını göstermişlerdir, ancak bir grup HPI hastada makrofajların fagositoz ve öldürme fonksiyonlarında azalma saptamışlardır (34,36). Yukarıda adıgeçen tüm çalışmalarda neden - sonuç ayırımı yapılması mümkün olmamıştır.

Lenfosit bağımlı makrofaj aktivasyonu

Makrofajların aktive olması ile mikrobisidal aktivite de artar; bu aktivite T-lenfosit veya NK hücresi kaynaklı -interferon gamma (IFN- γ) aracılığı ile olur. Lamperi ve Carozzi rekürren peritonitli hastalarda periton makrofaj ve T-lenfosit fonksiyonlarında bir azalma saptamışlardır; bakteriyel stimülasyon sonrasında periton

makrofajlarından IL-1 β salınımının azalması, PGE₂ salınımının artmasına, bu da periton lenfositlerinin daha az miktarda IFN- γ salgılamasına neden olur (4,35).

T lenfosit kökenli IL-4, diyalizat makrofajlarının IL-1 β , TNF- α , PGE₂ salınımını azaltır, yani makrofaj aktivasyonunun negatif regülasyonunda görev yapmaktadır (38).

Kemotaksis, transmigasyon

Yapılan çalışmalar HPI grubundaki hastalardaki periton makrofajlarının kemotaksis yeteneklerinin LPI grubundan daha fazla olduğunu göstermiştir (6,39).

Diyalizattaki hücre sayısının azlığı bakteri proliferasyonunu durdurmakta yetersiz kalmakta, periton membranındaki CD14(+) hücreler (submezotal makrofajlar) diyalizat içine geçmektedirler (40).

Peritonda, konakçı ilk savunma sisteminde nötrofilin rolü

Diyalizattaki düşük sayıları nedeniyle nötrofillerin ilk savunma sistemindeki rollerini saptamak güçtür. SAPD peritoniti öncesinde diyalizatta nötrofil sayılarında geçici artışlar saptanmaktadır ve bunun mikrop kolonizasyonuna bağlı hızlı bir kemotaktik cevabın sonucu olduğu düşünülmektedir (4).

Makrofaj ve nötrofil fonksiyonlarını etkileyen periton diyalizat faktörleri

Enfekte olmamış hastalarda, diyalizatta mononükleer ve granülosit hücre inhibitörleri çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir, bu maddelerin klinik önemi ve peritonite yatkınlıkla ilişkili olup olmadıkları halen bilinmemektedir. Granülosit inhibe edici peptid (granulocyte inhibitory peptide; GIP I) ve GIP II ve henüz isimlendirilememiş çeşitli moleküller bu grupta sayılabilir (41).

Yukarıda ayrıntılarına değinilen opsonofagositik sistem hücresel ve moleküler düzeyde etkileşim dışında, kullanılan diyalizat solüsyonundan da etkilenebilir; asidik, laktatlı ve hiperosmolar diyaliz solüsyonlarının in vitro olarak fagositoz ve bakterisidal fonksiyonlarda azalmaya yol açtığı gösterilmiştir, bunun in vivo olarak da geçerli olduğu düşünülmektedir (42).

PERİTON DİYALİZİ HASTALARINDA KONAKÇI SAVUNMASINI GÜÇLENDİRMEYE YÖNELİK TERAPÖTİK YAKLAŞIMLAR

Opsonizasyon

Bu açıdan intraperitoneal IgG ve stafilokokkal aşı kullanımı denenmiştir. Klinik olarak iki kontrolsüz çalışmada (Lamperi ve Carozzi ve Keane ve ark.) intraperitoneal IgG kullanımı peritonitsiz HPI SAPD hastalarında, peritonitsiz süreyi belirgin olarak uzatmıştır (43,44).

Ersoy ve ark. yaptığı bir çalışmada da antibiyotik tedavisine rezistan SAPD peritonitli 5 hastaya antibiotik tedavisini değiştirmeden; ek olarak intraperitoneal gammaglobulin verilmiş ve 48 saat içinde peritonitin kaybolduğu görülmüştür (45).

S.aureus aşısı ile yapılan ilk çalışmalarda belirgin antikor yanıtı oluşturulamamasına ve klinik olarak peritonit engellenmiyor görünmesine rağmen, yeni jenerasyon aşılarla yeterli antikor yanıtları oluşturulabilmekte ve bu yönde klinik çalışmalar devam etmektedir (4).

Hücrel immünomodülasyon

Rekombinant IFN α ve 1,25 dihidrosivitamin D₃'ün intraperitoneal kullanımıyla peritonit insidansında azalma olabileceğini gösterir çalışmalar mevcuttur, ancak klinik olarak bu açıdan IFN α etkili bulunurken, 1,25 dihidrosivitamin D₃ etkisiz bulunmuştur. Özellikle vitamin D₃'ün kemotaksisi azalttığı gösterilmiştir (4,46,47).

Solüsyon biyokompatibilitesi

Diyalizattaki kalsiyum miktarının arttırılmasının peritonit insidansında ne gibi değişiklik yapacağı halen bilinmemektedir, daha nötral pH'a sahip diyaliz solüsyonları halen denenmektedirler (4).

Sonuç olarak 1980'lerde ortaya konan, periton makrofajlarının bakterileri opsonofagositozuna dayanan bir periton savunma mekanizmasından, günümüzde kabul gören ve diyalizat makrofajları, lenfositleri, nötrofilleri, submezotel makrofajları, interleukinler ve adhezyon molekülleri ile yakından bağlantılı, komplike bir savunma mekanizması anlayışına geçilmiştir. Günümüzde ve gelecekte konağın savunma mekanizmalarını güçlendirecek tedavi yaklaşımları önemini koruyacaktır.

FAGOSİTOZ

Nötrofil fagositozu : Nötrofil olgun bir hücre olduğu için dolaşıma girer girmez fagositoz yapma yeteneğine sahiptir. Pseudopodlar aracılığı ile fagosite edeceği partikülü yakalar; fagozom'u oluşturur. Bir nötrofil ortalama olarak 5-20 bakteri fagosite ettikten sonra inaktive olur ve ölür.

Makrofaj fagositozu : Makrofajlar savunma sistemi aracılığı ile aktive edildiklerinde nötrofillerden çok daha kuvvetli fagositlerdir. Ortalama 100 bakteri fagosite edebilirler, fagosite ettikleri partiküller daha büyük olabilir (sıtma parazitleri, eritrositler gibi), fagositoz sonrası makrofajlar atık ürünleri kendi bünyelerinden uzaklaştırarak aylar boyu yaşayabilirler.

Fagositoz sonrası lizozomlar ve diğer sitoplazmik granüller fagozomda birleşirler ve fagozom sindirim keseciğine (digestive vesicle) dönüşür. Bu aşamada proteolitik enzimler ve lipozomlar (özellikle makrofajlarda bulunur) görev alırlar.

Lizozomal enzimler dışında fagositler diğer bakterisidal ajanlar da içerirler. Bunlar arasında süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil iyonları ($-OH^-$), miyeloperoksidaz sayılabilir (48).

Oponizasyon fagositozu kolaylaştırmaktadır, bu mekanizmaya daha önce değinilmiştir.

KEMOTAKSİS

Genel olarak lökosit migrasyonu için 3 safha tarif edilmiştir :

1. Non-direkt migrasyon (spontan migrasyon),
2. Stimüle edilmiş non-direkt migrasyon (kemokinezis),
3. Direkt migrasyon (kemotaksis).

Spontan migrasyon : Herhangi bir uyarıcı veya kemotaktik gradyan olmadığı bir ortamda hücrelerin spontan motilitesidir.

Kemokinezis : Kimyasal olarak uyarılmış hücrelerin kemotaktik gradyan olmadığı bir ortamda belirli bir yöne doğru olmayan motilitesidir.

Kemotaksis : Hücrelerin kemoatraktanların konsantrasyon gradyanı boyunca direkt migrasyonudur. Prokaryotik hücrelerde kemotaksis besin ortamı içinde olurken, gelişmiş organizmalarda

inflammasyon safhasında lokalize olmaya başlayan savunma sistemi hücreleri aracılığı ile işleyen bir mekanizmadır (49).

İlk olarak 1984'de Led Pfeffer kimyasal medyatörlerin lökositlerin direkt migrasyonuna neden olduğunu gösterdikten birkaç yıl sonra, Leber fagositlerin kemoatraktanların konsantrasyon gradyanını algılayıp, bu gradyanı takip ettiklerini öne sürdü. Stephen Boyden 1962'de "Boyden - Chambers" olarak bilinen tekniği geliştirdi; plastik odacığın üst bölümüne konulan nötrofillerin eğer alt bölümde uyaran varsa filtre arasından göç ettiğini gözledi ve taze seruma antijen ve antikor kompleksi ilavesinin nötrofil için kemotaktik olduğunu öne sürdü (50).

Nötrofiller ve monositler için kemotaktik olduğu bilinen çeşitli endojen ve eksojen moleküller vardır. Akut inflammatuar yanıt ile ilişkili kemotaktik ajanlar şunlardır :

1. Kompleman komponentleri,
 2. Lipooksijenöz ana yolu metabolitleri (5-HETE, LTA₄, LKB₄, vb),
 3. Bakteri kökenli kemotaktik peptidler,
 4. Tümör-Nekrosis Faktör (TNF) ve IL-1 gibi endojen sitokinler
- (50).

Kemotaktik ajanlarla nötrofil ve monositler kemoatraktan gradyanına karşı kemotaksis yapmakta, daha sonra fagositoz gerçekleşmekte, bunu hücre içi öldürme izlemekte ve organizma için zararlı ajanlar ortadan kaldırılmaktadır.

Çalışmamızda kriyopresipitat zengin bir fibronektin kaynağı olduğu için kullanılmıştır, bu yönden fibronektine değinmek faydalı olacaktır.

FİBRONEKTİN

Fibronektin 450.000 moleküler ağırlığında bir plazma proteinidir. Plasmada 300 mg/L düzeylerinde bulunur. Von Willebrand Faktörü ve kısmen fibrinojenle birlikte kriyopresipitatın bileşenlerinden biridir. Fibronektinin birçok biyolojik rolü mevcuttur. Plazmadaki "soluble" formu seçici-immün olmayan bir opsonindir. Kan akımında bulunan hücresel ve makromoleküler atık ürünlerin (bakteri ve tümör hücreleri, immün kompleksler, inhibitörlerle bağlanmış aktive faktörler, fibrin parçacıkları vb.) retiküloendotelial sistem tarafından uzaklaştırılmasını sağlar (7,51).

Hücresel düzeyde, hücre büyümesi için matriks oluşturması nedeniyle önemlidir. Hücresel büyümeyi bu yolla düzenler ve organize eder; bazı tümör hücre dizilerinde yüzey fibronektin eksikliğinin büyüme anormalliklerine sebep olduğu gösterilmiştir. Yara iyileşmesi sürecinde fibronektin, kollajen, fibrinojen ve faktör XIII ile birlikte iş görür. F-XIII-A'nın substratlarından birisidir. F-XIII-A ile kovalan bağ oluşturarak fibrin pıhtıları içinde yer alır.

Primer hemostazda, fibronektin kollajene platelet adhezyonunu artırır.

Plazmadaki fibronektin düzeyi, genellikle normalden fazla kullanıma bağlı olarak, bazı patolojik durumlarda azalır, bu plazmadan makromoleküllerin, protein komplekslerinin, fibriller yapıların retikuloendotelial sistem tarafından temizlenmesi yolu ile olur. Bu patolojik durumlara örnek olarak septisemi, ciddi yanıklar, major cerrahi girişimler ve travmalar, dekompanse siroz, ilerleyen kanserler, lösemiler, şok durumları verilebilir.

Fibronektin düzeylerindeki azalma hastalık ciddiyetiyle orantılı gözükmektedir.

Plazma fibronektin düzeyleri preeklampside anormal olarak artmış olarak bulunur, artmış fibronektin düzeyi gestasyonel hipertansiyon için en iyi belirteçlerden biri olarak kabul edilmektedir (52).

Fibronektin aynı zamanda ekstrasellüler matrikste bulunan major nonkollajenöz glikoproteindir, fibronektin dimerik hücre adezyon glikoproteindir ve iki disülfid bağıyla ayrılmış kısımdan oluşur ve matrikste miktarları plazmadakinden daha azdır.

Fibronektin hücre reseptörlerinin integrin ailesi üyelerini ligand olarak ekstrasellüler matrikse bağlar, bu reseptörleri taşıyan bazı hücreler bilinmektedir; fibroblast, nöral krest melanositleri, T ve B lenfositleri, makrofajlar, endotel hücreleri, epitel hücreleri, timositler, trombositler, akciğer adenokarsinom hücreleri gibi (53).

SAPD hastalarında periton makrofajlarında ve peritonite yol açan bakterilerde ve genel olarak tüm makrofaj ve nötrofillerde fibronektin reseptörleri tarif edilmiştir (4,25,54,55,56,57,58). Diyalizat fibronektin düzeyi ile peritonit sıklığı arasındaki ilişki iki ana çalışma ile ortaya konmaya çalışılmış; Goldstein 1986'da ilişki saptarken, Khan 1987'de ilişki saptayamamıştır (59,60).

Bu çalışmada SAPD hastalarında fibronektin ve muhtemel bazı diğer opsoninlerin azlığının SAPD peritonitine yakalanma şansını arttırabileceği ve eksik olan bu faktörlerin yerine konmasının opsonizasyon kapasitesini arttırarak ve muhtemelen bazı fagosit fonksiyonlarını etkileyerek bu olumsuzluğu geri döndürebileceği düşünülmüş ve zengin bir doğal fibronektin kaynağı olarak kriyopresipitat kullanılmıştır.

KRIYOPRESİPİTAT

Plazma ve volüm genişleticileri sınıfından özel kullanım endikasyonları olan bir kan ürünüdür. Tek donör torbası 20 ml hacindedir, F-VIII, FVIII-C, FXIII, Von Willebrand faktörü, fibrinojen ve fibronektin yönünden zengin bir kaynaktır. Tek donör torbası 80-100 ünite FVIII içerir, gene aynı hacimde 80-100 ünite FVIII-C bulunur.

Kullanım endikasyonları : Hemofili, Von Willebrand hastalığı, üreminin eşlik ettiği kanamalar, üremi koagülopatisi, major cerrahi.

Önlemler : Sadece kan grubu uygunluğu olan kriyopresipitat uygulanmalıdır. Aşırı kullanımında renal ve kardiyak yetmezlikte hacim yüklenmesine katkıda kullanılabilir, hepatik yetmezlikle kontrendike değildir, hamilelik ve çocuklarda kullanılabilir.

Toksisite : Febril transfüzyon reaksiyonu, allerjik transfüzyon reaksiyonu, hastalık geçirgenliği (kullanılan miktar ve donör sayısı ile orantılıdır) (61).

Kriyopresipitat zengin bir fibronektin kaynağı olması nedeniyle tıpta çeşitli endikasyonlarda kullanımı denenmiştir; fibrin yapıştırıcılarının yapılmasında, korneal defektlerin tamirinde, Von Willebrand faktör konsantreleri hazırlanmasında, organ yetmezliği ve sepsiste mortalitenin azaltılmasında, ciddi bazı hastalık durumlarında (karaciğer hastalığı, maliniteler, lösemi, travma, cerrahi gibi), amniotik sıvı embolizasyonunda ve deneysel rat kronik nefrit modellerinde (proteinuri ve histolojik bulguların düzeldiği görülmüştür), fibronektinin rolü ve etkisi sorgulanmıştır. Özellikle ciddi hastalık durumları ve sepsiste fibronektin eksikliği tüm çalışmalarda dökümanente edilmiş olmakla birlikte (sebebinin karaciğerde sentezinin azalması olduğu düşünülmektedir), bu eksikliğin giderilmesinin klinik olarak iyileşmeye sebep olmayacağını gösteren çalışmalar daha çoktur. Bu çalışmalar,

fibronektin eksikliğinin giderilmesinin bağışıklığı kuvvetlendireceği varsayımına dayanarak planlanmıştır (15, 62-70).

Fibronektin dűzeyleri SAPD peritoniti esnasında da bakılmıř, enfeksiyon kontrol altına alınana dek diyalizattaki miktarlarının artıř gösterdiđi, enfeksiyon kontrolű ile birlikte bu dűzeylerin peritonit ۆncesi dűzeylerine dűřtűđű, ancak peritonit esnasında kan fibronektin dűzeylerinin deđiřmediđi gۆsterilmiřtir. Peritoniti olmayan SAPD hastalarında fibronektin eksikliđi olabileceđi gۆsterilmiřtir. Ancak fibronektin dűzeyi eksikliđinin peritonit riskini arttırıp arttırmadıđı konusunda kesin bir gۆrűř birliđine varılamamıřtır, ancak en azından bir grup HPI SAPD hastasında opsonin eksikliđi kesin olarak gۆsterilmiřtir (59,71).

Bu çalışmada diyalizat nۆtrofil ve monositlerinin fagositozları, Flow-Sitometrik yۆntemle tayin edilmiştir, bu açıdan Flow-Sitometriden kısaca bahsetmek yerinde olacaktır.

FLOW SITOMETRİ

Son 15 yılda Flow analizi ve "cell sorting" tekniklerini sadece birkaç ۆzel laboratuvar kullanırken, son zamanlarda immunoloji ve diğer disiplinlerde vazgeçilmez standart bir araştırma cihazı olarak kullanılmaya başlanmıştır. Flow sitometri veya diğer tanımıyla "Flouescence-activated cell sorting (FACS)" ۆzellikle imműnolojik incelemelerde oldukça sık kullanılmaktadır. FACS uygulamaları son yıllarda ۆzellikle molekűler biyoloji ۆzerine yoğunlaşmaktadır.

Flow analiz sistemlerinde hűcre suspansiyonunun algılama ۆzelliđine sahip ۆzel bir bۆlűmden geçirilmesi gerekmektedir. Bu bۆlge en az bir odaklanmış lazer akımıyla karřılařtırılır. Bu alanda olan ıřık saçınımları ve floresan sinyalleri hűcreler algılayıcı bۆlűmden geçerken her hűcreden ayrı ayrı toplanır ve kompűter sisteminde belleđe kaydedilir. Bu sinyaller ilgi duyulan hűcrelerin tanımlanmasında kullanılır ve ileri çalıřmalar için saklanır.

FACS'ın en bűyűk avantajı istatistiksel olarak oldukça fazla sayıda hűcre ۆzerinde kantitatif multiparametrik ۆlűmler yapabilmesidir. FACS tekniđinin iyi çalıřması için 1-30 μm 'lık partikűler yapılar gereklidir. Bir FACS cihazında floresans detektۆrleri, piezoelektrik kristal, ۆne ve yana saçılım detektۆrleri, lazer kaynađı, aspiratۆr, defleksiyon yۆzeyleri bulunur ve bir FACS cihazı sıvı, mekanik ve optik

elementlerden oluşur. Işık saçınım analizi bize çalışılan hücrenin tespiti, hücre büyüklüğü, hücre yapısı, ölü-canlı hücre ayırımında yardımcı olur. Floresans analizi multipl işaretlenmelerin sözkonusu olduğu çalışmalarda gereklidir. Çalışılacak hücrenin ilgi duyulan özelliklerini tanımlamak için sık olarak immunofloresan ajanlar (Texas Red gibi) kullanılır (72).

FACS halen tıpta birçok alanda kullanılmakta ve kullanım alanları ve çalışılabilen hücre özellikleri her geçen gün artmaktadır.

Kliniğimizde kullanılan Epics-Profile II Flow sitometri cihazı ile halen immünofenotipleme, lenfosit alt grupları tayini, lösemi ve lenfoma tanısı, neoplastik hücrelerin saptanması, DNA ve RNA analizi, kemik iliği indeksleri, kemoterapiyi izleme, trombosit analizi, retikülosit analizi, immün kompleks tayini ve nicelendirilmesi, tümör spesifik markırların saptanması, hücre fonksiyonu testleri, kromozom analizi, anne karnında fetal hücrelerin saptanması, sperm analizi ve fertilitate tayini, mikroorganizma tayini, onkojen analizi, tümörlerde ilaçlara multipl direncin ölçülmesi (MDR) yapılabilmektedir.

HASTALAR VE METOD

Çalışmaya Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Nefroloji Bilim Dalı SAPD polikliniğinde izlemde olan son dönem böbrek yetmezlikli 10 hasta dahil edilmiştir, 9'u erkek, 1'i kadın olan hastaların yaş ortalaması 48 idi (35-65 arası). 5 hasta HPI (son 1 yılda 2 veya daha fazla peritonit atağı geçirenler), 5 hastada LPI (son 1 yılda 1 kez peritonit atağı geçirenler veya peritonit atağı geçirmeyenler) grubundandı. Çalışmaya dahil edilme kriterleri; en az bir yıldır SAPD programında olma, son bir yıldır SAPD programına herhangi bir nedenle ara verilmemiş olması, anemiye yönelik belirgin semptomların olmaması ve Hb düzeyinin 7 g/dl üzerinde olması (her hastadan otolog kriyopresipitat hazırlanması için 200 cc kan alındı), çalışmaya katılma esnasında peritonit geçirmiyor olması [periton sıvısı hücre sayımı (PSHS) $\leq 100/\text{mm}^3$ ve peritonit kliniğinin bulunmaması] ve çalışmaya katılmaya gönüllü olmak idi.

Her olgu için 3 çalışma günü harcandı. 1.gün saat 14.00'de çalışılacak hastadan kan merkezinde 200 cc kan, tam kan torbasına alındı. Kan alınmadan önce ve sonra vital bulgular özellikle ortostatik hipotansiyon ve taşikardi yönünden kaydedildi. Alınan kandan 2.gün saat 14.00'e kadar otolog kriyopresipitat (yaklaşık 20 cc) hazırlandı. 2.gün saat 08.30'da hasta SAPD polikliniğinde görüldü, 5 cc kan ve 5 cc diyalizat numunesi sitratlı tüplere alındı ve satrifüj edilerek ayrılan serumlar ve diyalizat numuneleri fibronektin düzeyi tayini için

çalışılana dek derin dondurucuya kaldırıldı. Hastalardan 1.gün 24.00'da taktıkları SAPD diyalizatları alındı, bu diyalizat 500 cc'lik 4 adet CPD Adenine 1 Whole Blood (Human) kan torbasına alındı. Her 100 ml'de içerik olarak sodyum sitrat (dihidrat) 2.63 g, sitrik asit (anhidro) 0.30 g, sodyum bifosfat (monohidrat) 0.22 g, dekstrozu (monohidrat) 3.19 g, adenine 27.5 mg bulunmaktaydı.

Kan torbaları 3600 rpm, 20 dk, 10°C'de santrifüj edildi, süpernatant manuel trombosit ayırma cihazıyla atıldı. Kalan kısım 50 cc'lik 8 adet plastik tüpe alındı; 2600 rpm, 10 dk, 10°C tekrar santrifüj edildi, süpernatant plastik enjektörle alındı ve geriye kalan hücre solüsyonu 1500 rpm, 5 dk 10°C'de santrifüj edilerek 5-7 cc'lik hücre süspansiyonu elde edildi. Otomatik kan sayım cihazıyla periton sıvısı hücre sayımı (PSHS) saptandı ve 5000/mm³'lük bir hücre süspansiyonu elde etmek için tekrar 2600 rpm, 3 dk, oda sıcaklığında santrifüj sonrası hücre süspansiyonunun süpernatant atılarak hücreler üzerine uygun miktarda Medium 199 eklendi. Hazırlanan bu son süspansiyondan yayma yapılarak Wright boyası ile boyandı ve periton sıvısı formülü (PSF) yapıldı, gene eş zamanlı olarak viabilite metilen mavisi ile yayma yapılarak mikroskop altında incelendi. % 90'dan daha az viabilite değerlerine sahip numuneler çalışmaya dahil edilmedi. 2.gün, en geç saat 12.30'da (gece SAPD torbası boşaltıldıktan sonraki ilk 4 saat içinde) ayrılmış diyalizat hücre süspansiyonu kullanılarak, nötrofil ve monosit için Etidium Bromide işaretli *S.aureus* fagositozu Flow-sitometrik yöntemle, nötrofil ve monosit spontan migrasyon ve kemotaksisi Boyden-Chambers metoduyla saptandı.

2.gün saat 14.00'de 1 gün önce alınan kandan hazırlanmış olan 20 cc otolog kriyopresipitat steril bir 20 cc'lik enjektöre alınarak, hastaya teslim edildi ve uygulama anına dek +4°C'de (buzdolabı kapağında) muhafaza edilmesi istendi. 2.gün saat 24.00'de- kriyopresipitat gece SAPD torbasına, steril şartlarda, hasta tarafından konuldu. 3.gün saat 08.30'da tekrar aynı yöntemle santrifüj sonrası, 5000/mm³'lük hücre süspansiyonu elde edildi. PSHS, periton sıvısı formülü (PSF), viabilite, nötrofil ve monosit kemotaksisi ve spontan migrasyonu, nötrofil ve monosit flow-sitometrik fagositozuna bakıldı. Bulunan tüm değerler, kullanılan SAPD rejimleri (ultraset, Twinbag veya sistem-III) ay cinsinden, komorbid durumlar, SAPD risk kategorisi (HPI veya LPI), intraperitoneal kriyopresipitat sonrası görülen yan etkiler, hasta ile ilgili demografik veriler kaydedildi.

NÖTROFİL VE MONOSİT SPONTAN MİGRASYON VE KEMOTAKSİS TAYİNİ

Kemotaksis ve spontan migrasyon ölçümü Boyden-Chambers metoduyla yapıldı. Kemoatraktan olarak ZAS (Zimozanla aktive edilmiş serum "Zymosan activated serum") ve spontan migrasyon ölçümü için Medium 199 kullanıldı. Hücre süspansiyonu 5000/mm³'e ayarlanırken, santrifüj sonrası ayrılan hücreler Medium 199 eklenmeden önce 5 kez PBS (Phosphate buffered saline) ile yıkandı. Her bir hastanın monosit ve nötrofil spontan migrasyon ve kemotaksislerine bakmak için 4 adet Boyden-Chambers hazırlandı. İkisinin alt odacığına 0.6 cc ZAS + Medium 199 (1/5 oranında) eklenirken, diğer iki kutucuğun alt odacığına sadece 0.6 cc Medium 199 eklendi, her 4 kutucuğun üst odacıklarına 5000/mm³'lük hücre süspansiyonundan 0.5 cc konuldu. Otuz dakika 37°C'de bekletildikten sonra boyama yapıldı. Boyden-Chamber'larda nötrofiller için 3 µm porlu, monositler için 5 µm porlu selüloz nitratlı filtreler kullanıldı. Filtreler daha sonra aşağıdaki protokole göre boyandı (Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuvarının rutin boyama tekniği kullanıldı) (80).

Boyama Yöntemi

1.	Absolü alkol % 99	5 dk,
2.	Distile su	2 dk,
3.	Hematoksilen	1 dk,
4.	Distile su	2 dk,
5.	Çeşme suyu	10 dk,
6.	Alkol % 70	2 dk,
7.	Alkol % 95	3 dk,
8.	% 20 Butanol + % 80 Etanol	5 dk,
9.	Xylol	10 dk.

Boyama işlemi tamamlandıktan sonra boyanmış filtreler lam üzerine yerleştirildi ve immersiyon yağı ile mikroskopta 40'luk okülerle nötrofil ve monositlerin filtrenin üst kısmından alt kısmına yaptıkları hareket mikrometre cinsinden 5'er kez ölçüldü ve ortalamaları alındı. Bu yöntemle nötrofil ve monositlerin ZAS ile kemotaksisleri, Medium 199 ile spontan migrasyonları hesaplandı.

Çalışmada kemoatraktan olarak kullanılan ZAS'ı hazırlamak için kan grubu AB Rh (+) olan sağlıklı 3 kişiden kan alındı, oda ısısında 20

dakika bekletilerek pıhtılaşması sağlandı ve 1400 devirde 15 dk santrifüj edilerek serumlar ayrıştırılarak karıştırıldı. Bir mililitre seruma 5 mg Zimozan A ilave edildikten sonra 37°C'de 1 saat bekletildi ve daha sonra 2000 devirde 20 dk santrifüj edildi, Zimozan çöktürüldükten sonra üst kısımdaki aktive serum 0.5 ml'lik tüplere konularak, -20°C'de kullanıma dek bekletildi.

NÖTROFİL VE MONOSİT S.AUREUS FAGOSİTOZ TAYİNİ

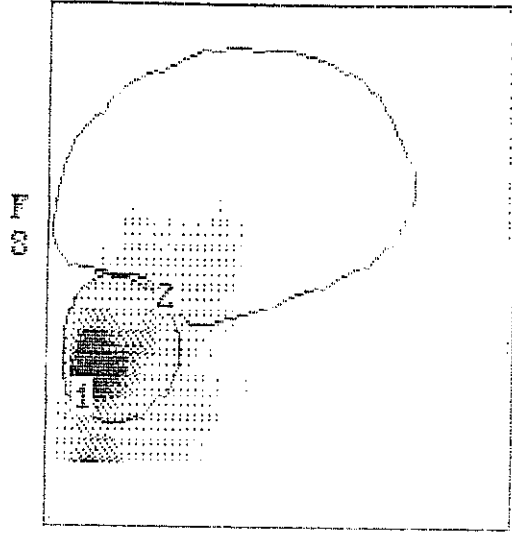
Önceden hazırlanmış standart floresanlı S.aureus süspansiyonunun uygun Flow-sitometrik yöntem ile Epics-Profile II Flow sitometri cihazı kullanılarak zamana göre nötrofil ve monositlerce ne ölçüde fagosite edildiği saptandı.

S.aureus süspansiyon hazırlanması

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında üretilmiş S.aureus kolonileri kullanıldı, agar üzerinde serum fizyolojik ile süspanse edilen koloniler cam tüpe alındı, üzerine 3 cc serum fizyolojik eklendi. 5000 rpm, 10 dk, oda ısısında santrifüj edildi, süpernatant atıldı. Pelletler tekrar serum fizyolojik ile aynı yöntemle santrifüj edildi ve 3 cc'ye tamamlandı, bu işlem bir kez daha tekrarlanarak toplam 3 kez santrifüj işlemi uygulanmış oldu. Mac Farland yöntemiyle bakteri yoğunluğu 10⁹/ml'ye ayarlandı (dilüsyon için serum fizyolojik kullanıldı). Oluşturulan bakteri süspansiyonuna Etidium Bromide konuldu ve floresans veren bakteriler elde edildi.

Flow sitometrik fagositoz

Flow sitometrik analiz için Epics-Profile II cihazı kullanıldı. 5000/mm³ hücre içeren hücre süspansiyonundan (hücre + Medium 199) 200 µl + 200 µl pooled AB serumu + 20 µl S.aureus süspansiyonu plastik tüplerde karıştırıldı ve 0, 15, 30, 45 ve 60 dakikalarda enkübasyon sonrası karışım süspansiyonu Q prep'ten geçirildi (hücre bakteri adhezyonu ortadan kaldırıldı) ve fikse edildi (73). Ortamda 1 hücre başına 20 bakteri bulunmaktaydı. Bu dakikalarda floresans veren nötrofil, monosit yüzdeleri (yani floresanlı bakterileri fagosite ederek floresans özelliği kazanmış hücre yüzdeleri) saptandı. Bunun için Flow-sitometrik olarak hücrelerin ayrılması Şekil 1'de görülmektedir.



33

Şekil 1 : Flow sitometrik analiz.

- 1: Monositler,
- 2: Nötrofiller.

AKTİF
MERNİS
MERNİS

Fibronektin düzeyi ölçümleri

Çalışmanın 2.günü alınan kan ve diyalizat numuneleri eş zamanlı olarak LIA test, Diagnostico Stago ile çalışıldı. serum ve diyalizat numuneleri 5'er cc olarak sitratlı tüpe alındı, kan numuneleri santrifüj edildi ve serumu ayrıldı. Tüm numuneler çalışma zamanına dek derin dondurucuda saklandı (-20°C) Fibronektin düzeyleri, LIA test ile sağlıklı 10 bireyin serum fibronektin değerlendirilmesinden oluşan havuzun yüzdesi olarak ve absorbands dönüşümünde lineer grafik modeli kullanılarak ifade edildiler.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirmeler "SPSS for windows" bilgisayar paket programı ile yapıldı.

1. Nötrofil ve monosit fagositozunun değerlendirilmek için "Repeated Measure ANOVA" kullanıldı.

* Kriyopresipitat öncesi ve sonrası zaman dilimlerine göre fagositoz değerlendirilmesi "ortogonal single degree of freedom comparison" ile,

- * Zamana göre fagositoz (time-point) "Bonferroni prosedürü" ile,
 - * HPI ve LPI gruplarının genel karşılaştırılması "between + within ANOVA" ile,
 - * Kriyopresipitat öncesi ve sonrası fagositoz değerlerinin trend varlığı "ortogonal polynomials" ile,
 - * HPI ve LPI grupları arası trend karşılaştırılması "Interaction sum of squares" ile yapıldı.
2. Nötrofil ve monositler için kriyopresipitat öncesi ve sonrası kemotaksis ve spontan migrasyon karşılaştırılması "Wilcoxon matched pairs test" ile yapıldı.
 3. HPI ve LPI grupları arasında serum ve diyalizat fibronektin düzeyleri karşılaştırılması "Wilcoxon matched pairs testi" ile, HPI ve LPI grupları arasında, her bir grup için, serum ve diyalizat fibronektin düzeyleri ilgisi "spearman korelasyon katsayısı" ile belirlendi.
 4. Kriyopresipitat öncesi ve sonrası diyalizat lökosit formülü, kriyopresipitat öncesi ve sonrası periton sıvısı hücre sayısının değerlendirilmesi için gene "Wilcoxon matched pairs testi" kullanıldı.
 5. Uygulanan SAPD türü ve peritonit riski (HPI veya LPI grubuna dahil olma) arasındaki ilişki "spearman korelasyon katsayısı" ile belirlendi.

Fagositoz, diyalizat hücre formül yüzdeleri ve fibronektin düzeyleri ham verileri (% cinsinden) için Arc Sin dönüşümü uygulandı.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 10 hastanın ad ve soyadlarının baş harfleri, yaş, cinsiyet, KBY etyolojisi, komorbid durumlar, uygulanan SAPD türü, son bir yılda geçirdiği peritonit atağı sayısı ve peritonit risk grupları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 10 olgunun 9'u erkek, 1'i kadın ve yaş ortalamaları 48.4 ± 11.0 idi (35-65 arası) ve ortalama 31.00 ± 10.89 aydır SAPD programında idiler. Bu olguların 5'i HPI, 5'i LPI grubundaydı.

Nötrofil ve monosit fagositozu

Kriyopresipitat öncesi ve sonrası zamana göre fagositoz yüzdeleri (fagositoz yapmış nötrofil ve monosit yüzdeleri) Tablo 2 ve 3'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Demografik veriler.

Olgu No	SAPD süresi (ay)	Ad-soyad	Yaş	Cinsiyet	KBY etyolojisi	Komorbidite	SAPD türü (ay)			Son 1 yılda geçirildiği peritonit atakları sayısı	SAPD peritonit risk grubu
							Sistem III	Ultraset	Twinbag		
1	37	AT	54	E	Hipertansif nefroskleroz	-	32	5	0	LPI	
2	27	RA	35	E	Kronik glomerulonefrit	Kronik persistent Hepatitis B	17	5	2	HPI	
3	43	AOA	48	E	Hipertansif nefroskleroz	Koroner arter hastalığı	-	38	5	2	HPI
4	24	MÇ	43	E	Bilinmiyor	-	23	-	1	6	HPI
5	26	AÜ	65	E	Diabetik nefropati	Tip II diabetes mellitus	2	19	5	2	HPI
6	41	EU	54	E	Hipertansif nefroskleroz	-	-	7	5	1	LPI
7	31	AÖ	37	E	Kronik pyelonefrit	-	26	-	5	2	HPI
8	12	YK	46	E	Bilinmiyor	-	-	7	5	1	LPI
9	47	ÇD	37	K	Hipertansif nefroskleroz	Mitral yetmezlik	8	34	5	1	LPI
10	22	NT	65	E	Diabetik nefropati	Tip II diabetes mellitus	17	-	5	1	LPI

Tablo 2. Monosit fagositozu.

(Değerler $\frac{(\text{Fagosite etmiş monosit sayısı}) \times 100}{(\text{Total monosit sayısı})}$ olarak verilmiştir)

Olgu No	Kriyopresipitat uygulananımı	Zaman (dakika)				
		0	15	30	45	60
1	K ⁻	6.0	12.4	26.9	29.8	10.0
	K ⁺	8.4	20.3	35.0	61.1	65.0
2	K ⁻	6.5	11.3	23.0	26.6	25.0
	K ⁺	21.6	31.5	43.8	47.1	63.2
3	K ⁻	4.3	11.3	23.5	24.1	25.0
	K ⁺	4.4	18.0	50.8	71.7	82.7
4	K ⁻	2.8	2.8	4.5	3.9	4.5
	K ⁺	4.5	4.5	11.8	12.2	15.9
5	K ⁻	3.1	4.8	12.3	18.9	24.1
	K ⁺	3.0	8.0	14.9	22.7	28.6
6	K ⁻	7.4	7.6	8.3	6.5	11.1
	K ⁺	4.8	8.0	13.8	13.1	13.9
7	K ⁻	4.2	7.3	19.7	25.3	28.0
	K ⁺	15.1	8.3	8.0	10.4	9.0
8	K ⁻	11.8	14.3	21.6	27.4	23.7
	K ⁺	1.7	2.0	2.0	1.8	2.3
9	K ⁻	1.9	1.8	1.9	1.8	1.7
	K ⁺	1.4	5.3	12.1	11.8	10.9
10	K ⁻	5.2	5.2	5.3	5.0	5.0
	K ⁺	4.2	4.1	3.8	3.6	4.0
Ortalama \pm standart sapma	K ⁻	5.3 \pm 2.9	7.9 \pm 4.3	14.7 \pm 9.2	17.9 \pm 12.9	18.8 \pm 12.8
	K ⁺	6.9 \pm 6.5	12.0 \pm 9.5	22.9 \pm 18.0	27.5 \pm 18.0	31.5 \pm 28.6

K⁻ : Kriyopresipitat uygulananımı öncesi

K⁺ : Kriyopresipitat uygulananımı sonrası.

Tablo 3. Nötrofil fagositozu.

(Değerler $\frac{(\text{Fagosit eymiş nötrofil sayısı}) \times 100}{(\text{Total nötrofil sayısı})}$ olarak verilmiştir)

Olgu No	Kriyopresipitat uygulananımı	Zaman (dakika)				
		0	15	30	45	60
1	K ⁻	3.0	6.0	14.8	15.0	17.1
	K ⁺	2.2	14.4	31.1	46.1	50.9
2	K ⁻	1.2	8.2	20.3	44.8	62.9
	K ⁺	13.4	79.6	8.1	87.5	84.2
3	K ⁻	6.2	11.5	16.3	8.7	13.2
	K ⁺	4.3	10.1	22.4	28.4	31.0
4	K ⁻	8.6	17.4	14.2	7.5	6.1
	K ⁺	12.2	10.7	9.2	13.8	12.5
5	K ⁻	2.8	3.9	9.0	12.1	12.3
	K ⁺	3.9	5.2	14.8	18.3	23.4
6	K ⁻	14.1	21.3	21.1	21.8	22.1
	K ⁺	8.1	9.8	24.2	20.1	30.4
7	K ⁻	7.6	8.2	9.8	11.6	10.9
	K ⁺	6.4	20.8	21.6	20.9	30.3
8	K ⁻	11.3	13.9	20.5	31.4	32.7
	K ⁺	2.0	2.2	2.3	1.9	2.0
9	K ⁻	2.6	2.4	2.1	2.1	1.9
	K ⁺	2.8	4.9	8.8	11.0	13.1
10	K ⁻	4.0	4.9	5.5	5.3	5.2
	K ⁺	4.9	5.0	4.4	4.4	4.7
Ortalama ± standart sapma	K ⁻	6.1 ± 4.2	9.8 ± 6.2	13.4 ± 6.6	16.0 ± 13.2	18.5 ± 18.0
	K ⁺	6.0 ± 4.0	16.3 ± 22.9	22.0 ± 22.7	26.2 ± 25.2	29.0 ± 24.7

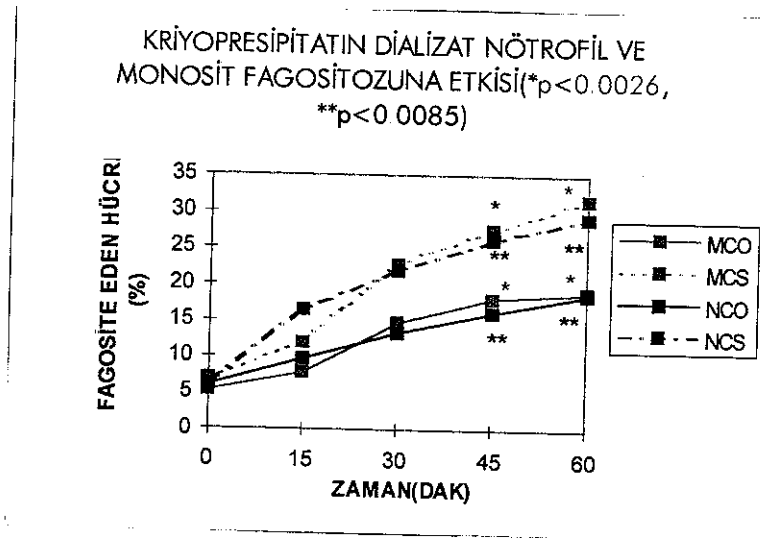
K⁻ : Kriyopresipitat uygulananımı öncesi

K⁺ : Kriyopresipitat uygulananımı sonrası.

Kriyopresipitat verildikten sonra monosit fagositozu artmıştır (p = 0.0026). Benzer şekilde kriyopresipitat uygulanımı takiben nötrofil fagositozunda da anlamlı bir artış saptanmıştır (p = 0.0085), monosit ve nötrofil için bu artış 45 - 60 dk aralığı için anlamlıdır.

HPI ve LPI grupları arasında nötrofil ve monosit fagositozları, kriyopresipitat uygulanımı öncesi ve sonrasında farklılık göstermiyorlardı (p>0,05). Kriyopresipitat uygulanımı öncesi ve sonrasındaki nötrofil ve monosit fagositozları Grafik 1'de gösterilmiştir.

Grafik 1.



MCO : Kriyopresipitat uygulanımı öncesi makrofaj fagositozu
MCS : Kriyopresipitat uygulanımı sonrası makrofaj fagositozu
NCO : Kriyopresipitat uygulanımı öncesi nötrofil fagositozu
NCS : Kriyopresipitat uygulanımı sonrası nötrofil fagositozu
Fagositoz yüzdeleri ortalama olarak ifade edilmişlerdir.

Nötrofil ve monosit spontan migrasyon ve kemotaksisi

Çalışmaya dahil edilen 10 hastanın kriyopresipitat uygulanımı öncesi ve sonrası spontan migrasyon ve kemotaksisleri Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Nötrofil ve monosit spontan migrasyon ve kemotaksisi.

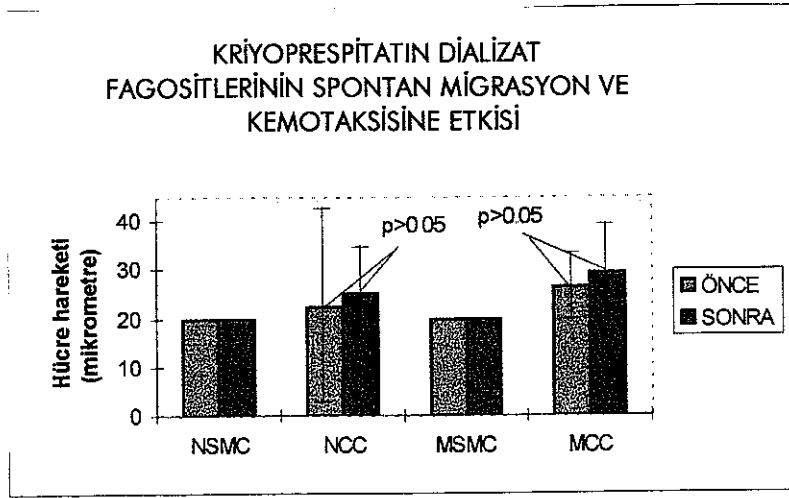
Hasta No	Kriyopresipitat uygulananımı	Spontan Migrasyon (mikrometre)		Kemotaksis (mikrometre)	
		Nötrofil	Monosit	Nötrofil	Monosit
1	K ⁻	20	20	30	30
	K ⁺	20	20	45	35
2	K ⁻	20	20	20	20
	K ⁺	20	20	15	45
3	K ⁻	20	20	35	35
	K ⁺	20	20	20	20
4	K ⁻	20	20	30	30
	K ⁺	20	20	30	30
5	K ⁻	20	20	20	20
	K ⁺	20	20	20	20
6	K ⁻	20	20	20	30
	K ⁺	20	20	35	45
7	K ⁻	20	20	30	30
	K ⁺	20	20	30	30
8	K ⁻	20	20	30	20
	K ⁺	20	20	20	20
9	K ⁻	20	20	30	30
	K ⁺	20	20	30	30
10	K ⁻	20	20	20	20
	K ⁺	20	20	20	20
Ortalama ± standart sapma	K ⁻	20.0 ± 0.0	20.0 ± 0.0	22.0 ± 19.7	26.5 ± 5.8
	K ⁺	20.0 ± 0.0	20.0 ± 0.0	25.0 ± 8.8	29.5 ± 9.8

K⁻: Kriyopresipitat uygulananımı öncesi

K⁺: Kriyopresipitat uygulananımı sonrası.

Intraperitoneal kriyopresipitat uygulananı öncesi ve sonrası nötrofil ve monosit spontan migrasyon ve kemotaksisleri arasında fark saptanmadı ($p > 0,05$). Kriyopresipitatın diyalizat fagositlerinin spontan migrasyon ve kemotaksisine etkisi Grafik 2'de görölmektedir.

Grafik 2.



NSMC: Nötrofil spontan migrasyonu, kriyopresipitat uygulananından,
NCC: Nötrofil kemotaksisi, kriyopresipitat uygulananından,
MSMC: Makrofaj spontan migrasyonu, kriyopresipitat uygulananından,
MCC: Makrofaj kemotaksisi, kriyopresipitat uygulananından,

Değerler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmişlerdir.

Diyalizat hücre sayısı ve formülü

Diyalizat hücre sayımı (hücre sayısı/mm³) ve formülü (nötrofil, monosit, lenfosit yüzdeleri) Tablo 5'de görülmektedir.

Tablo 5. Diyalizat hücre sayımı ve formülü.

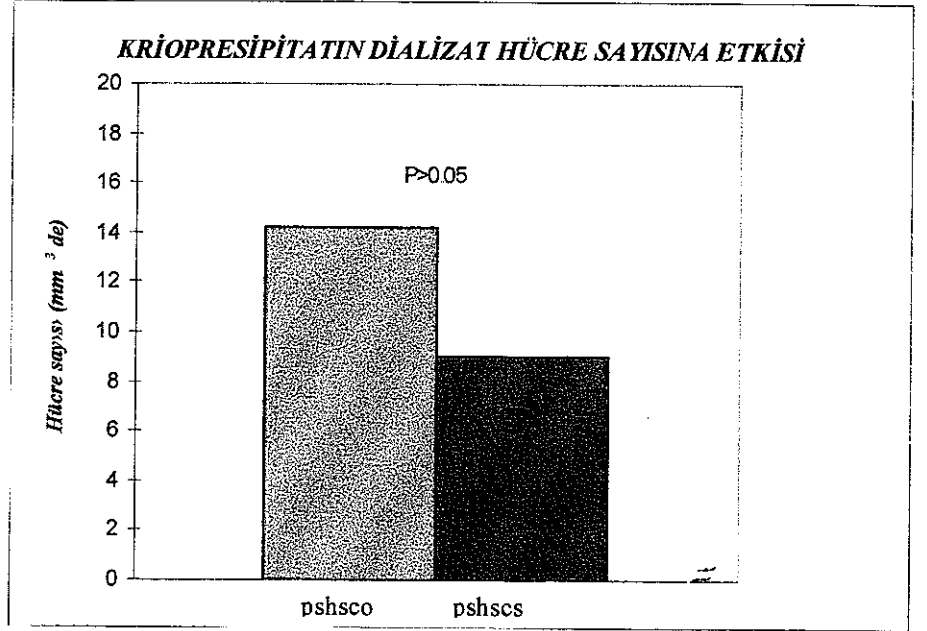
Hasta No	Kriyopresipitat uygulananımı	Diyalizat hücre sayımı (mm ³ 'de)	Diyalizat hücre formülü (%)			
			Mezotel hücresi	Nötrofil	Monosit	Lenfosit
1	K ⁻	4	0	30	35	35
	K ⁺	9	0	20	40	40
2	K ⁻	3	0	30	18	52
	K ⁺	4	0	30	20	50
3	K ⁻	6	0	28	32	40
	K ⁺	6	0	30	28	42
4	K ⁻	4	59	1	5	35
	K ⁺	4	57	2	5	36
5	K ⁻	100	0	70	22	8
	K ⁺	27	0	44	38	20
6	K ⁻	4	0	12	28	60
	K ⁺	3	0	10	30	60
7	K ⁻	5	0	15	35	50
	K ⁺	8	0	15	25	60
8	K ⁻	5	0	10	70	20
	K ⁺	18	0	15	75	10
9	K ⁻	6	0	5	80	15
	K ⁺	7	0	5	82	13
10	K ⁻	5	0	20	40	40
	K ⁺	5	0	16	38	46
Ortalama ± standart sapma	K ⁻	14.2 ± 30.2	-	22.1±19.7	36.5±22.8	35.5 ± 6.8
	K ⁺	9.0 ± 7.7	-	18.7±12.8	38.1±23.7	37.7±18.0

K⁻ : Kriyopresipitat uygulananımı öncesi

K⁺ : Kriyopresipitat uygulananımı sonrası.

İntraperitoneal kriyopresipitat uygulananı öncesi ve sonrasında diyalizat hücre sayıları ve diyalizat hücre formülü (nötrofil, monosit, lökosit yüzdeleri) arasında fark saptanmadı ($p > 0,05$). Kriyopresipitatın diyalizat hücre sayısı ve formüllere etkisi Grafik 3 ve Grafik 4'de gösterilmektedir.

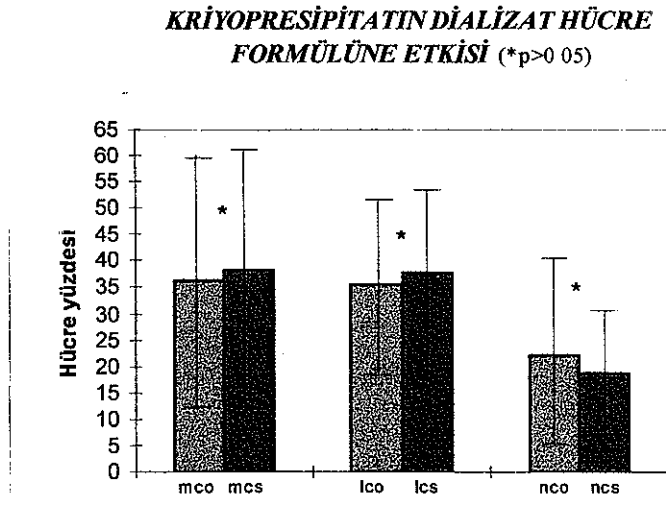
Grafik 3.



pshsco :Periton sıvısı hücre sayımı (diyalizat hücre sayısı), kriyopresipitat öncesi,
pshscs :Periton sıvısı hücre sayımı (diyalizat hücre sayısı), kriyopresipitat sonrası.

Hücre sayısı ortalama olarak ifade edilmiştir.

Grafik 4.



mco : Kriyopresipitat uygulananı öncesi makrofaj yüzdesi,
mcs : Kriyopresipitat uygulananı sonrası makrofaj yüzdesi
lco : Kriyopresipitat uygulananı öncesi lenfosit yüzdesi,
lcs : Kriyopresipitat uygulananı sonrası lenfosit yüzdesi,
nco : Kriyopresipitat uygulananı öncesi nötrofil yüzdesi,
ncs : Kriyopresipitat uygulananı sonrası nötrofil yüzdesi.

Hücre yüzdeleri ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Serum ve diyalizat fibronectin düzeyleri

Intraperitoneal kriyopresipitat uygulananı öncesi HPI ve LPI grupları arasındaki serum ve diyalizat fibronectin düzeyleri karşılaştırıldı (Tablo 6).

Tablo 6. SAPD risk grubuna göre diyalizat ve serum fibronectin düzeyleri.

Hasta No	SAPD peritonit risk grubu	Serum fibronectin düzeyi (havuz yüzdesi)	Diyalizat fibronectin düzeyi (havuz yüzdesi)
1	LPI	128	23
2	HPI	327	22.8
3	HPI	172	22.6
4	HPI	191	22
5	HPI	119	22
6	LPI	157	21
7	HPI	85	23
8	LPI	74	22
9	LPI	172	22
10	LPI	185	21
Ortalama ± standart sapma	HPI	178.8 ± 92.9	22.5 ± 0.5
	LPI	143.2 ± 44.1	21.8 ± 0.8

HPI : High peritonitis index (yüksek peritonit indeksli)

LPI : Low peritonitis index (düşük peritonit indeksli)

HPI ve LPI grupları arasında serum ve diyalizat fibronectin düzeyleri yönünden fark bulunamadı ($p > 0.05$).

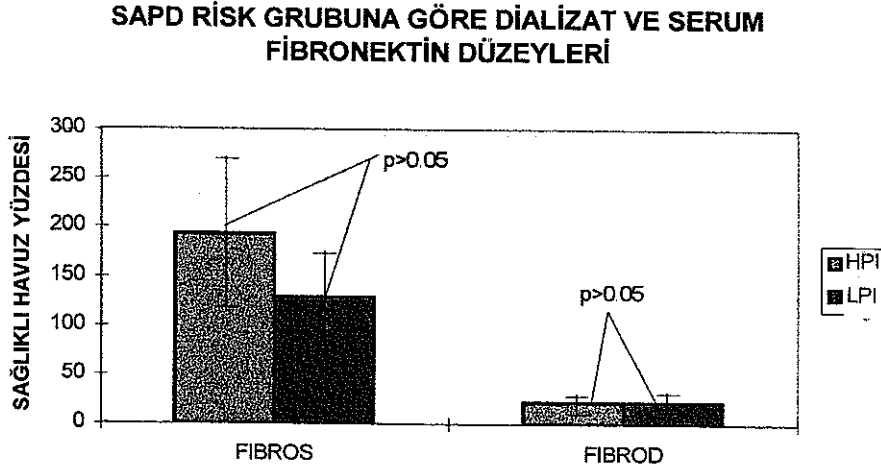
Serum fibronectin değerleri diyalizat fibronectin düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksekti ($p = 0.0051$).

HPI grupta serum/diyalizat fibronectin düzeyleri yönünden kuvvetli bir negatif ilişki sözkonusuydu ($r = -0.6040$; Spearman correlation coefficient).

LPI grupta serum/diyalizat fibronectin düzeyleri yönünden kuvvetli bir pozitif ilişki mevcuttu ($r = 0.5270$; Spearman correlation coefficient).

SAPD risk grubuna göre diyalizat ve serum fibronektin düzeyleri Grafik 5'te gösterilmiştir.

Grafik 5.



FIBROS : Serum fibronektin düzeyi,
FIBROD : Diyalizat fibronektin düzeyi,
LPI : Low peritonitis index (düşük peritonit indeksli grup),
HPI : High peritonitis index (yüksek peritonit indeksli grup).

Fibronektin değerleri (yüzde olarak) ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir.

SAPD türü ve SAPD peritonit risk grubu ilişkisi

HPI ve LPI grupları arasında SAPD tedavisine başlandıktan sonra, çalışma zamanına kadar uygulanan SAPD türleri (sistem III, twinbag, ultraset) karşılaştırıldı. Peritonit gelişimi açısından sistem III ile orta derecede pozitif bir ilgi ($r= 0.4685$; Spearman correlation coefficient), twinbag ile orta derecede negatif bir ilgi ($r= 0.3333$; Spearman correlation coefficient) saptandı (Bakınız : Tablo 1).

TARTIŞMA

Bu çalışmada, peritonitsiz SAPD olgularında bir opsonin olarak fibronektin ilk kez intraperitoneal olarak kullanılmış ve direkt olarak kriyopresipitat şeklinde fagosit fonksiyonları üzerine olan etkisi incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilen 10 SAPD hastasında diyalizat fibronektin düzeyleri, serum fibronektin düzeylerinden daha düşük bulundu, literatürde bu; intraperitoneal dilüsyonla açıklanmaktadır ve bu bulgu diğer çalışmalarla uyumludur (4,74). Çalışmada, HPI ve LPI grupları arasında HPI grupta serum ve diyalizat fibronektinleri arasında negatif bir ilişki; LPI grupta ise pozitif bir ilişki saptanmıştır, yani HPI grupta diyalizat fibronektin düzeyleri serum fibronektin düzeylerine göre daha düşük seyretmeye meyilli iken, LPI grupta diyalizat fibronektin düzeyi serum fibronektin düzeyi ile paralel gitme eğilimliydi; bir başka deyişle HPI grubunda diyalizat fibronektin düzeyleri, LPI grubuna göre, serum fibronektin düzeylerinden daha da düşüktüler. Literatürde HPI ve LPI grupları arasında fibronektin düzeyi açısından fark saptanmadığını gösteren çalışmaların yanısıra, fark olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (59, 60).

HPI ve LPI grupları arasında fibronektin düzeyleri yönünden fark bulunmamış olması gruplardaki hasta sayısının azlığına (5'er olgu) veya fibronektin düzeyi ölçümünde kullanılan LIA teste bağlı olabilir. LIA test ile, çalışmadaki fibronektin düzeyleri sağlıklı havuzun serum fibronektin düzeyinin yüzdesi olarak ifade edilmiştir. Nefelometrik bir analizle bulunan direkt fibronektin düzeylerinin istatistiksel analizinin daha farklı sonuçlar verebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Önemli bir diğer faktör de fibronektin düzeylerinin tek başına total opsonize

edici gücü yansıtmayacağıdır, bu yüzden Ig düzeyleri ve kompleman düzeylerinin de tayini bu açıdan fikir verecektir (4). Daha geniş hasta grubuyla yapılacak, eş zamanlı, nefelometrik, serum ve diyalizat fibronektin düzeyi ölçümlerinin HPI ve LPI grupları arasında fark yaratabileceği düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda sağlıklı insan serum ve periton sıvısına göre oldukça düşük olan diyalizat fibronektin düzeyini arttırmak amacıyla intraperitoneal olarak otolog kriyopresipitat kullanıldı. Kriyopresipitatın parenteral kullanımının serum fibronektin düzeylerini arttırdığı daha önce gösterilmiştir ve kriyopresipitat fibronektin kaynağı olarak daha değişik endikasyonlarla kullanılmıştır (15,62-70).

Bizim çalışmamızda kriyopresipitat verildikten sonra diyalizat fibronektin düzeyleri teknik nedenlerden dolayı tekrar çalışılmadı. Ancak, sonuç olarak bazal diyalizat ve serum fibronektin düzeyleri göz önüne alındığında, HPI ve LPI gruplarında bu yönden farklı ilişkiler saptandı.

Fibronektinin bilinen biyolojik rollerinden bazıları ;

- a) Seçici immün olmayan bir opsonin olması; kanda bulunan hücrel ve makromoleküler atık ürünlerin (bakteri ve tümör hücreleri, immün kompleksler, inhibitörle bağlanmış aktive faktörler, fibrin parçacıkları), retikuloendotelial sistem tarafından uzaklaştırılması,
- b) Hücrel büyüme için matriks oluşturması, yara iyileşmesinde kollajen, fibronojen ve faktör XIII ile birlikte iş görmesi, c) FXIII-A ile birleşerek fibrin pıhtısı oluşumu içinde yer alması, d) Primer hemostazda kollajene karşı platelet adezyonunu arttırmasıdır. Bu çalışmada esas olarak fibronektinin opsonin olma özelliğinden yararlanmak hedeflenmiştir.

Staphylococcus aureus ve makrofaj ve nötrofil üzerinde reseptörlerinin tariflenmiş olması (4, 25, 55-58), özellikle opsonizasyonun etkin bir fagositoz için gerekli olduğu bilindiğinden (5,8,84), ortamdaki fibronektin miktarının artmasının özellikle diyalizat monosit ve nötrofil fagositozunu arttıracakını düşündürmüştü. Son zamanlarda yayınlanan bir çalışmada diyalizatta bulunan diğer önemli opsoninlerin (Ig ve C₃) SAPD peritonitini engellemediği gösterildiğinden (75) bir opsonin olarak fibronektin peritonite karşı savunma mekanizmaları içinde daha da önem kazanmaktadır.

Kriyopresipitatın literatürde intraperitoneal kullanımına dair veriye rastlamadık. Değişik endikasyonlarla parenteral kullanımı mevcut idi ve parenteral kullanımıyla ciddi yan etki bildirilmemiştir. Gene benzer şekilde, otolog kriyopresipitat kullanımı da bildiğimiz kadarıyla, literatürde mevcut değildir. Bu çalışmada otolog kriyopresipitat etik nedenlerle kullanılmıştır; hastalık bulaşımını engellemek, allerjik ve febril transfüzyon reaksiyon gelişimi şansını en aza indirmek hedeflenmiştir (61). 10 olguda intraperitoneal 20 cc kriyopresipitat uygulanımını takiben, 3 olguda (% 30) intraperitoneal kriyopresipitat verildikten 1-2 saat sonra başlayan, kendiliğinden geçen, analjezik kullanımı gerektirmeyen hafif bir karın ağrısı oldu. Takip edilen hastalarda PSHS ve klinik değerlendirme tekrarlandı. Hiçbir olguda ciddi yan etki görülmedi, intraperitoneal kriyopresipitat uygulanımı sonrasında PSHS ve PSHF (periton sıvısı hücre formülü)'de değişme gözlenmedi. İntraperitoneal kriyopresipitat uygulanımı sonrası ortaya çıkan karın ağrısının nedeni izah edilemedi, bunun sebebinin periton irritasyonu veya peritoneal dolaşımda mikrotrombüs oluşumu olabileceği düşünüldü (fibronektinin faktör XIII-A ile birlikte fibrin pıhtısı içinde yer almasından yukarıda bahsedilmişti).

Yapılan çalışmalarda ortalama kriyopresipitat fibronektin düzeyinin serum fibronektin düzeyinden yaklaşık 100 kat fazla olduğu gösterilmiştir (74). Bu nedenle yaklaşık 2000 cc periton diyaliz sıvısı için, periton içinde serumdaki kadar fibronektin düzeyi oluşturmak amacıyla, diyalizattaki bazal fibronektin düzeyini pratik olarak yok sayarsak (kriyopresipitat veya seruma göre ihmal edilebilir), 2000 cc/100 = 20 cc kriyopresipitat intraperitoneal olarak verilmelidir. Ancak hastalardan otolog kriyopresipitat hazırlanması için az miktarda kan alınabildiğinden (200 cc) ve tek donör kullanıldığından hazırlanan otolog kriyopresipitatta serumun 7 katı kadar fibronektin olduğunu gördük. Bu nedenle çalışmamızda otolog kriyopresipitatın intraperitoneal kullanımı sonrasında, başta hedeflenen serum düzeyinin ancak % 7'si kadar intraperitoneal fibronektin düzeyi oluşturduğunu varsayabiliriz ;

$$\frac{\text{Bulunan dializat fibronektin düzeyi}}{\text{Amaçlanan dializat fibronektin düzeyi}} = \frac{\text{Kullanılan kriyopresipitat fibronektin düzeyi/ dilusyon katsayısı}}{\text{İdeal kriyopresipitat fibronektin düzeyi/dilusyon katsayısı}}$$

$$= \frac{(\text{Serum fibronektin düzeyi} \times 7) / (2000/20)}{(\text{Serum fibronektin düzeyi} \times 100) / (2000/20)} = 7/100 = (\% 7)$$

Bahsedilen referans diyalizat, serum ve kriyopresipitat değerleri daha önce üzerinde görüş birliğine varılmış çalışmalardan alınmıştır (74,76). In vitro olarak opsonize partiküller ve insan periferik kan monositleri kullanılarak yapılan bir çalışmada ortamdaki fibronektin miktarı arttıķa, özellikle serumdaki fibronektin miktarına ulaşıldığında, monosit fagositozunun artmaya başladığı gösterilmiştir (77). Serum fibronektin düzeyleri diyalizat fibronektin düzeylerinden yaklaşık 100 kat fazladır (4). Bu nedenle biz de serumdakinin % 7'si kadar bir fibronektin düzeyi oluşturarak, bazal diyalizat fibronektin düzeyini 7 kat arttırdığımızı varsaymaktayız. Yani çalışmada oluşturduğumuz fibronektinli ortamda, hedeflediğimiz fibronektin düzeylerinden daha düşük fibronektin bulunmasına rağmen, bu gene de monosit ve nötrofil fagositozunda artışa sebep olmuştur.

Çalışmada intraperitoneal olarak verilen otolog kriyopresipitatın nötrofil ve monosit fagositozunu belirgin olarak arttırdığı görüldü. Fibronektinin in vitro olarak nötrofil ve monosit fagositozunun arttırdığını gösterir çalışmalar mevcuttur (4,7,77) ve hem S.aureus, hem de monosit ve nötrofil yüzeyinde fibronektin reseptörleri tarif edilmiştir (4,25,55-58). Bu fagosit reseptörleri fibronektinin Arjinin-Glisin-Asparajin peptid kısmını tanımaktadırlar (54). Makrofajdaki fibronektin reseptörleri 76KDa ağırlığında ve protein yapısındadır. S.aureus yüzeyinde fibronektinin bağlandığı reseptör "Fibronectin binding protein (FnBP)" olarak isimlendirilmiştir (78). İlginç olarak FnBP'nin fare periton boşluğunda kemoatraktan özellik gösterdiği saptanmıştır. Fibronektinin nonopsonik fagositoz mekanizması ile F_c ve C₃ reseptörleri üzerinden de fagositozu arttırdığı ortaya konmuştur (4). Bunun dışında fibronektinin makrofaj hücre iskeleti yapısını değiştirerek de fagositozu arttırdığı ne srlmştir (18). Sonuç olarak kriyopresipitat verilmesini takiben gözlenen artmış fagositozun opsonik ve belki de beraberinde nonopsonik fagositozun artması neticesinde ve yukarıdaki mekanizmalar aracılığı ile olduğunu dşunmekteyiz.

Bazal diyalizat nötrofil ve monosit fagositozu yeteneklerinin özellikle ilk 30 dakikasının sağlıklı insan periferik kan hücre fagositozuna göre azalmış olduğu grlmektedir. Literatürde peritonitsiz SAPD olgularında periferik kan ve diyalizat hücrelerinin fagositozunun artmış ve azalmış olduğunu gösterir çalışmalar mevcuttur, literatürde bu konuda tam bir görüş birliğine varılamamıştır (4). HPI ve LPI

gruplarının ayrıldığı çalışmalarda da HPI grubunda da fagositozun artmış ve azalmış olduğunu gösterir çalışmalar vardır, bu çalışmalarda neden-sonuç ilişkisi kurmak mümkün olmamıştır (6,34,35,36). Bizim çalışmamızda, HPI ve LPI gruplarının bazal fagositoz yetenekleri arasında fark bulunmamasının nedeni hasta sayısının yetersizliği olabilir. Çalışmada, özellikle nötrofil ve monosit fagositozu ölçümleri 45-60 dakikalar arasında anlamlı bulunmuştur. Literatürde fagositoz ölçümleri 20 - 60 dakikalık sürelerde yapılmıştır (5,6,9,73). Bundan sonra yapılacak çalışmalarda ölçüm sürelerinin 60 dakikaya kadar uzatılması mantıklı görünmektedir.

Diyalizat nötrofil ve monosit spontan migrasyon ve kemotaksis değerlerinin normalden düşük olduğu ve kriyopresipitat uygulanımı sonrası artış göstermediğini saptadık. Bir çalışmada LPI grubundaki SAPD hastalarının kemotaksislerinde azalma olduğu (SAPD'ye başladıktan sonraki birinci yıl içerisinde), ancak HPI grupta kemotaksisin yüksek kaldığı öne sürülmüştür ve bu HPI grupta diyalizat fagositlerinin daha aktive olmalarına bağlanmıştır (6). Bir başka çalışmada peritonitsiz SAPD hastalarında periferik kan ve diyalizat hücrelerinin kemotaksisinin sağlıklı olgulara göre arttığı gösterilmiştir (37). Üreminin ve inhibitör peptitlerin kemotaksisi baskıladığı da öne sürülen diğer bir görüştür (79, 82). Ancak çalışmamızda diyalizat nötrofil ve monosit kemotaksisleri normalden düşük olarak bulunmuştur ve bu düşüklük yönünden HPI ve LPI grupları arasında fark saptanmamıştır. Bu diyalizattaki asidik ortama ve laktat içeriğine (4) veya diyalizattaki "granulocyte inhibitory peptide (GIP)" gibi baskılayıcı maddelere (4,79) bağlı olabilir veya çalışmamızda kullanılan zimozanla aktive edilmiş serum uygun bir kemoatraktan olmayabilir. Bir diğer daha uzak olası görünen sebep de kemotaksis ölçümünde kullandığımız Boyden-Chambers yöntemiyle ilgili teknik problemlerdir. Kemotaksis ölçümlerinin daha sağlıklı sonuçlar vermesi için daha geniş bir hasta grubuna ihtiyaç vardır.

Intraperitoneal kriyopresipitat uygulanımı öncesi ve sonrası tüm olgular gözden geçirildiğinde PSHS ve PSHF arasında fark saptanamadı. HPI ve LPI grupları da birbirleriyle, kriyopresipitat uygulanım öncesi ve sonrasında PSHS ve PSHF yönünden farklı değildi. Diyalizatta en fazla izole edilen hücreler monosit ve lenfositlerdi, nötrofiller daha az miktarlarda izole edildiler, bu bulgular diğer çalışmalarla uyum göstermektedir (4,6). Yapılan çalışmalarda PSHS'nın SAPD'ye başladıktan sonraki 1 yıl içerisinde zamanla azaldığı, LPI grupta

PSHF'da değişiklik olmazken, HPI grupta diyalizatta monosit oranlarının 1.yılın sonunda azaldığı gösterilmiştir (4,6). Çalışmaya alınan tüm hastalar 1 yıldan daha fazla süredir SAPD programında olduklarından, SAPD'ye başlandıktan sonra ilk yıl içinde görülen PSHS ve PSHF değişikliklerinin sonuçlarımızı etkilemediğini düşünürüz. PSHS ve PSHF için SAPD hastaları arasında oldukça farklılıklar vardır (4), biz de bu değişkenliği kendi olgularımızda gözledik.

Kullanılan SAPD sistemleri ile peritonit ilişkisine bakıldığında sistem III ile Twinbag sistemi arasında SAPD peritoniti riski yönünden fark bulunmuştur. Twinbag ile peritonit gelişme şansı daha az, sistem III ile daha fazladır. Bu bilgi literatür ile uyumludur. Twinbag daha yeni bir SAPD sistemi olup, genel olarak daha yeni SAPD sistemlerinin dokunmayla olan kontaminasyonu azaltarak peritonit riskini azalttıkları gösterilmiştir (4).

Sonuç olarak azalmış diyalizat nötrofil ile monosit fagositoz yetenekleri, kriyopresipitat (fibronektin) ile *in vivo* etkileşim sonrasında artış göstermişlerdir. Bilindiği kadarıyla, bu kriyopresipitatin fibronektin kaynağı olarak intraperitoneal yoldan kullanıldığı ilk *in vivo* çalışmadır ve intraperitoneal kriyopresipitat uygulanması güvenli bulunmuştur. Bu nedenle intraperitoneal kriyopresipitat kullanımının, opsonizasyonu arttırarak ve suprese diyalizat nötrofil ve monosit fagositozunu düzelterek SAPD peritonit immunoprofilaksisinde yararlı olabileceği görüşündeyiz. Ancak F.Ersoy ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, intraperitoneal gamma globulin uygulamasının opsonizasyonu arttırarak profilaksi dışında peritonit tedavisinde de faydalı olduğu gösterildiğinden, fibronektinin benzer mekanizmayla SAPD peritonit immunoterapisinde de faydalı olabileceğini düşünmekteyiz (45).

Kriyopresipitat (fibronektin)'in intraperitoneal uygulamasının fagosit fonksiyonlarına olan etkisini ve SAPD peritonit immunoprofilaksi/immunoterapisindeki yerini daha iyi anlayabilmek için, tasarlanacak ideal bir çalışmada daha geniş HPI ve LPI gruplarının kullanılması, fibronektin uygulaması öncesi ve sonrası fibronektin ve diğer opsoninlerin düzey tayini, daha konsantre fibronektin kaynağı oluşturup; intraperitoneal daha yüksek fibronektin konsantrasyonları elde etmek için otolog kriyopresipitattan ziyade çok sayıda donörden hazırlanmış allojenik kriyopresipitat kullanımı, flow sitometrik analizde

hücre işaretlenmesi için monoklonal antikorların kullanımı, intraselüler öldürme yeteneğinin de tayini için kemolüminisans ölçümü ve intraperitoneal kriyopresipitat uygulanımı sonrası hastaların peritonit gelişimi yönünden uzun süreli takibi gereklidir. Bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR

- 1) İntraperitoneal kriyopresipitat uygulananı sonrasında ciddi yan etki gözlenmedi, olguların % 30'unda geçici, hafif karın ağrısı ortaya çıktı. Kriyopresipitatın intraperitoneal uygulananı güvenli bulundu.
- 2) Bazal diyalizat nötrofil ve monosit fagositoz, kemotaksis ve spontan migrasyon değerleri literatürdeki sonuçlarla karşılaştırıldığında düşük olarak bulundu.
- 3) İntraperitoneal otolog kriyopresipitat uygulananı sonrasında, nötrofil ve monosit fagositozu anlamlı olarak artış gösterirken, kemotaksis ve spontan migrasyon yeteneklerinde düzelme olmadı. PSHS ve PSHF kriyopresipitat uygulananından etkilenmedi. Fagositoz artışı yönünden HPI ve LPI grupları arasında fark yoktu.
- 4) Tüm hastalarda bazal diyalizat fibronectin düzeyleri, serum fibronectin düzeylerinden belirgin olarak düşüktü. HPI grubunda diyalizat ve serum fibronectin düzeyleri arasında negatif kuvvetli bir ilişki, LPI grubunda da aynı düzeyler arasında pozitif kuvvetli bir ilişki bulunmakla beraber, HPI ve LPI grupları arasında diyalizat ve serum fibronectin değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamadı; ancak bu veriler ışığında HPI grubunda diyalizat fibronectin düzeyleri, LPI grubuna göre serum fibronectin düzeylerinden daha da düşük olduklarından, daha geniş hasta gruplarıyla yapılan bir çalışmada HPI grubunda

istatistiksel olarak anlamlı bir diyalizat opsonin eksikliği bulunabileceği göz ardı edilmemelidir.

- 5) İntraperitoneal kriyopresipitat uygulananı, güvenli bir tedavi yaklaşımı olması ve diyalizatta opsonize edici gücü arttırarak nötrofil ve monosit fagositoz yeteneklerini güçlendirmesi nedeniyle SAPD peritonit immunoprofilaksisinde ve/veya immunoterapisinde faydalı olabilir.
- 6) Daha geniş HPI ve LPI grupları kullanılması, diğer opsonin düzeylerinin tayini, fibronektin içeriği yüksek allojenik kriyopresipitat kullanımı, flow sitometrik analizde monoklonal otoantikolarla işaretleme yapılması, kemolüminisans tayini, intraperitoneal kriyopresipitat kullanılan SAPD hastalarının uzun süreli klinik gözlemi kriyopresipitatın SAPD peritonit immunoprofilaksi/immunoterapisi ve fagosit fonksiyonları üzerine olan etkisini daha iyi anlamamıza yardımcı olacaktır.

ÖZET

Peritonit SAPD tedavisinin major komplikasyonlarından. Son zamanlarda peritonit tedavisinde immunomodülatör tedavi yaklaşımları ve özellikle opsonizasyonu artırıcı önlemler üzerinde durulmaktadır. Bu çalışmada zengin bir doğal opsonin kaynağı olarak fibronektin içeren otolog kriyopresipitat intraperitoneal olarak SAPD hastalarına verilmiş ve bunun diyalizattaki nötrofil ve monosit fonksiyonları üzerine etkisi incelenmiştir.

Çalışmaya peritoniti olmayan, 9'u erkek, 1'i kadın 10 hasta (yaş ortalaması 48) alınmıştır. Bu 10 hastanın 5'i sık peritonit geçiren (HPI), 5'i nadir peritonit geçiren (LPI) hastalardı. Hastalardan çalışma öncesi 200 ml kan alınarak otolog kriyopresipitat hazırlandı. Çalışma günü sabahı hastaların gece enfüze ettikleri periton diyaliz sıvıları tam kan torbalarına alınarak santrifüj yöntemi ile diyalizat lökositleri elde edildi. Çalışma günü akşamı hazırlanmış olan kriyopresipitat hastaların gece SAPD torbalarına eklendi, ertesi sabah tekrar diyalizat lökositleri ayrıldı. Diyalizat lökositleri kullanılarak "flow sitometrik" analiz ile Etidium Bromide işaretli standart *S.aureus* süspansiyonu ile diyalizattaki nötrofil ve monositlerin fagositoz yetenekleri, "Boyden-Chambers" metoduyla, nötrofil ve monositlerin spontan migrasyon ve kemotaksis değerleri saptandı. Olgularda periton sıvısı hücre sayımı (PSHS) ve periton sıvısı hücre formülü (PSHF) yapıldı. Serum ve diyalizat fibronektin düzeyleri LIA ile ölçüldü.

Sonuç ; Kriyopresipitat verilmesini takiben nötrofil ve monosit fagositoz yetenekleri belirgin olarak arttı ($p = 0.0085$ ve $p = 0.0026$). Bu artış yönünden HPI ve LPI grupları arasında bir fark saptanmadı.

Kriyopresipitat öncesi ve sonrası kemotaksis, spontan migrasyon, PSHS, PSHF değerleri arasında fark bulunamadı ($p > 0.05$). HPI ve LPI grupları arasında diyalizat ve serum fibronektin düzeyleri yönünden fark yoktu ($p > 0.05$). İntraperitoneal kriyopresipitat uygulanması diyalizattaki nötrofil ve monositlerin fagositoz yeteneğini arttırmaktadır. İntraperitoneal kriyopresipitat kullanımının diyalizat opsonizasyonunu güçlendirerek SAPD peritonit profilaksisi ve/veya tedavisinde olumlu sonuçlar verebileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Popovich RP, Moncrief JW, Nolph KD. Continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Ann Intern Med*, 88(4): 449-456, 1978.
2. Twardowski ZJ. Peritoneal dialysis ; Current technology and techniques. *Perit Dial Int*, 85: 165-182, 1989.
3. Gurland HJ, Moran J, Wetzels E. Immunological perspectives in chronic renal failure. *Contrib Nephrol*, Basel, Karger, 1990, Vol.86: 73-90.
4. Holmes CJ. Peritoneal host defense mechanisms in peritoneal dialysis. *Kidney International*, Vol.46, Suppl 48(1994): 58-70.
5. Harvey DM, Sheppard KJ, Morgan AG, Fletcher J. Neutrophil function in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *British Journal of Haematology*, 68: 273-278, 1988.
6. Michiel G, Betjes H, Tuk CW, Struijk DG, Krediet RT, Arisz L, Hoefsmit ECM, Beelen RHJ. Immunoefector characteristics of peritoneal cells during CAPD treatment : A longitudinal study. *Kidney International*, Vol.43(1993): 641-648.
7. Holmes CJ, Lewis S. Host defense mechanisms in the peritoneal cavity of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients, 2.Human defenses. *Perit Dial Int*, Vol.11 (1991): 112-117.
8. Gordon DL, Rice JL, Avery VM. Surface phagocytosis and host defense in the peritoneal cavity during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1990: 191-197.
9. Verbrugh HA, Keane WF, Hoidal JR, Freiberg HR, Elliott GR, Peterson PK. Peritoneal macrophages and opsonins, antibacterial defense in patients undergoing chronic peritoneal dialysis. 39th National Meeting of the American Federation for Clinical Research, Washington DC: 1018-1029.
10. KeaneF, Comty CM, Verbrugh HA, Peterson PK. Opsonic defficiency of peritoneal dialysis effluent in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney International*, 25(1984): 539-543.

11. Yang KD, Augustine NH, Shaio MF, Bahnsack JF, Hill HR. Effects of fibronectin on actin organisation and respiratory burst activity in neutrophils monocytes and macrophages. *Journal of Cellular Physiology* 158(2): 347-353, 1994.
12. Hershkoviz R, Alan R, Gilat D, Liden O. Activated T lymphocytes and macrophages secrete fibronectin which strongly supports cell adhesion. *Cellular Immunology*, 141(2): 352-361, 1992.
13. Kolb BV, Abel F. Participation of D-galactose specific receptors for liver macrophages in recognition of fibronectin opsonized particles. *Carbohydrate Research*, 213: 201-212, 1991.
14. Egan RA, Vijayan VK. Fibronectin immunoreactivity in neural trauma. *Brain Research*, 568(1-2): 330-334, 1991.
15. Powell FS, Doran JR. Current status of fibronectin in transfusion medicine : focus on clinical studies. *Vox Sanguinis*, 60(4): 193-202, 1991.
16. Nielsen H, Espersen F, Kharazmi A, Antersen S, Ejlersen E, Joffe P, Peterson FB. Specific opsonic activity for staphylococci in peritoneal dialysis effluent during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis.*, 20(4): 372-375, 1992.
17. Nills CL, Ariyo O, Yamada KM, Lash JW, Bellairs R. Evidence for the involvement of receptors for fibronectin in the promotion of chick tail segmentation. *Anatomy and Embryology*, 182(5): 425-434, 1990.
18. Yang KD, Bahnsack JF, Hausley MM, Augustine NH, Knape WA, Egon ML, Pritchard DQ, Hill HR. Effect of fibronectin on IgA mediated uptake of type III group B streptococci by phagocytes. *J Infect Dis.*, 161(2): 236-241, 1990.
19. Kluffinger JL, Kelly NM, Jost BH, Hencock RE. Fibronectin as an enhancer of nonopsonic phagocytosis of *Pseudomonas aeruginosa* by macrophages. *Infection & Immunity*, 57(9): 2782-2785, 1989.
20. Muller S, Massen V, Droesch S, Donner M, Stoltz JF. Phagocytosis and membrane fluidity : application to the evaluation of opsonizing properties of fibronectin. *Biorheology*, 26(2): 323-330, 1989.
21. Rybski JA, Lause DB, Reese AC. Effect of fibronectin as antigen-induced lymphoproliferation and antibody synthesis in rats. *J Leukoc Biol.*, 45(1): 35-45, 1989.
22. Brown EJ. The role of extracellularmatrix proteins in the control of phagocytosis (Review). *J Leukoc Biol.*, (39(5): 579-591, 1986.
23. Harmann H. Fibronectin cell interaction. *Klinische Wochen Schrift*, 64, Suppl 7: 51-53, 1986.

24. Bohnsack JF, O'Shea JJ, Takahashi T, Brown EJ. Fibronectin enhanced phagocytosis of an alternative pathway activator by human culture-derived macrophages is mediated by the C4_b/C3_b complement receptor (CR₁). *Journal of Immunology*, 135(4): 2680-2686, 1985.
25. Mosesson MW. The role of fibronectin in monocyte/macrophage function. *Progress in Clinical and Biological Research*, 154: 155-175, 1984.
26. Rovin B, Molner J, Chevalier DG, Ng P. Interaction of plasma fibronectin with membranous constituents of peritoneal exudate cells and pulmonary macrophages. *J Leukoc Biol.*, 36(5): 601-620, 1984.
27. Pobbie JW. Serositis : Comparative analysis of histological findings and pathogenetic mechanisms in nonbacterial serosal inflammations. *Perit Dial Int.*, 13(4): 256-269, 1993.
28. Glancey GR, Cameron JS, Ogg CS. Peritoneal drainage. An important elements in host defense against staphylococcal peritonitis on CAPD. *Nephrol Dial Transplant.*, 7: 677-631, 1992.
29. Koomen GCM, Vlug A, Struijk DG, Van Oden RW, Imholz ALT, Krediet RT. Serum IgG₂ is lower in CAPD patients than in hemodialysis patients and healthy volunteers. *perit Dial Int.*, 14: 532, 1994.
30. Clark LA, Easman CSF. Opsonic requirements of staphylococcus epidermitis. *J Med Microbiol* 22: 1-7, 1986.
31. Mc Gregor SJ, Biocck JH, Briggs JD, Junor BJR. Relationship of IgG, C₃ and transferrin with opsonising and bacteriostatic activity of peritoneal fluid from CAPD patients and the incidence of peritonitis. *Nephrol Dial Transplant.*, 2: 551-556, 1987.
32. Boner G, Mhashilka AM, Rodriquez OM, Sharon N. Lectin mediated nonopsonic phagocytosis of type I Escherichia coli by human peritoneal macrophages of uremic patients treated by peritoneal dialysis. *J Leukoc Biol.*, 14: 239-245, 1989.
33. Lewis S, Holmes CJ. Host defense mechanisms in the peritoneal cavity of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int.*, 11: 145-21, 1991.
34. Mc Gregor SJ, Broock JH, Briggs JD, Jurior BJF. Bacteriocidal activity of peritoneal macrophages from CAPD patients. *Nehprol Dial Transplant.*, 2: 104-108, 1987.
35. Lamperi S, Carozzi S. Immunological defenses in CAPD. *Blood Purif.*, 7: 126-143, 1989.

36. Lamperi S, Carozzi S. Suppressor resident macrophages and peritonitis incidence in CAPD. *Nepron*, 44: 219-225, 1986.
37. Goldstein CS, Bernalaski JS, Zurier RB, Neilson EG, Douglas SD. Analysis of peritoneal macrophages in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Kidney International*, 26: 733-740, 1984.
38. Hart PH, Cooper RL, Finlay JJJ. IL-4 supresses IL-1 β , TNF- α and PGE₂ production by human peritoneal macrophages. *Immunology* 72: 344-349, 1991.
39. Holmes CJ, Lewis SL, Kubey WY, Van Epps DE. Comparison of peritoneal white blood cell parameters from CAPD Patients with a high or low incidence of peritonitis. *Am J Kidney Dis*, 15: 258-264.
40. Suassona JHR, Neves IC, Glancey G, Ogg CS, Heartley RB, Cameron JS. Activation markers on leukocytes within the peritoneal membrane of continuous ambulatory dialysis (CAPD) patients. *Current Concepts in peritoneal Dialysis*. Excerpta Medica, Amsterdam (1992): 283-291.
41. Haag WM, Mai B, Hörl WH. Purification of two granulocyte inhibitory proteins from the peritoneal dialysis effluent of CAPD patients. Cause for disturbed host defense in the peritoneal cavity during CAPD. *J Am Soc Nephrol*, 4: 406, 1993.
42. De Fijter CWH, Verbrugh HA, Peters EDJ, Van Der Meulen J, Verhoef J, Danker AJM. In vivo exposure to the currently available peritoneal dialysis fluids decreases the function of peritoneal macrophages in CAPD. *Clin Nephrol*, 39: 75-80, 1993.
43. Lamperi S, Carozzi S. Defective opsonic activity of peritoneal effluent during continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) : Importance and prevention. *Perit dial Bull*, 6: 87-92, 1986.
44. Keane WF, Bengerson B, Perce T, Peterson PK. Challenges for continuous ambulatory peritoneal dialysis in proceedings of the Xth International Congress of Nephrology, edited by Davison AM, London, Balliere Tindall Publishers, 1988 : 1255-1267.
45. Ersoy FF, Sezer T, Özcan S, Ertürk J, Gültekin M. Effectiveness of low dose, intraperitoneal human gamma globulin in the treatment of refractory CAPD peritonitis. *Perit Dial Int*, 16(3): 328-329, 1996.
46. Carozzi S, Hasihi MG, Schelotta C, Cauiglia PM, Cantaloppi A, Salit M, Lamperi S. Intraperitoneal therapy with interferon α in CAPD patients with relapsing bacterial peritonitis. *ASA 10 Trans*, 35: 421-423, 1989.

47. Chan PCK, Ip MSM, Pun KK. 1,25 dihydroxycholecalciferol and peritoneal macrophage chemotaxis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephron.*, 59: 434-439, 1991.
48. Guyton AC. *Guyton Textbook of Medical Physiology*. WB.Saunders Company, Philadelphia (1991): 367-368.
49. Üstün H. Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi Peritonitli Hastalarda Sefodizimin Diyalizat Nötrofil ve Monosit Spontan Migrasyonu ve Kemotaksisine Etkisi. *Uzmanlık Tezi*, Antalya, 1996: 3-4.
50. Synderman R, Goetzl EJ. Molecular and cellular mechanisms of leukocyte chemotaxis. *Science*, 213: 830-836, 1981.
51. Alland D, Rapin J, Jacqueson A, Freund M, Couglaud JM, Labrousse J. Plasma fibronectin levels in normal subjects. *Thromb.Res.*, 43: 375-378, 1986.
52. Lazarchick J, Stubbs TM, Romeh L, Van Dorsten JP, Loadholt CB. Predictive value of fibronectin levels in normotensive gravid women destined to become preeclamptic. *Am J Obstet Gynecol.*, 154: 1050-1052, 1986.
53. Wyngaarden JB, Smith LH, Bennett JC. *Cecil textbook of medicine*, WB.Saunders Company, Philadelphia (1992): 1493-1496.
54. Hill HR, Augustine NH, Williams PA, Brown EJ, Bohnsack JF. Mechanism of fibronectin enhancement of Group B streptococcal phagocytosis by human neutrophils and culture derived macrophages. *Infection & Immunity*, 61(6): 2334-2339, 1993.
55. Blytone SD, Kaplan JE. Isolation of an amino terminal fibronectin binding protein on human U937 cells and rat peritoneal macrophages. *Journal of Biological Chemistry*, 267(6): 3968-3975, 1992.
56. Kahn FR, Klingemann HG. Regulation of fibronectin receptor (alpha5 beta 1) mRNA expression in human monocytes and monocyte derived macrophages by activation/differentiation signals. *Experimental Hematology* 19(7): 653-658, 1991.
57. Bohnsack JF, Takahashi T, Brown EJ. Interaction of culture derived macrophages with the fibroblast binding domain of fibronectin is a necessary but inefficient signal for fibronectin enhancement of CR₁ mediated phagocytosis. *Journal of Immunology*, 136(10): 3793-3798, 1986.
58. Wright SD, Meyer BC. Fibronectin receptor of human macrophages recognized the sequence Arg-Gly-Asp-Ser. *J Exp Med.*, 162(2): 726-727, 1985.

59. Goldstein CS, Garrick RE, Polin RA, Gerdes JS, Kolski GB, Neilson EG, Douglas SD. Fibronectin and complement secretion by monocytes and peritoneal macrophages in vitro from patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Leukoc Biol.*, 39: 457-464, 1986.
60. Khan RH, Klein M, Vas SI. Fibronectin in the normal peritoneal fluids of patients on chronic ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) and during peritonitis. *perit Dial Bull.*, 7: 69-73, 1987.
61. Barson WG, Jastemski MS, Syeerud SA. *Emergency Drug Therapy*. WB.Saunders Company, Philadelphia (1991): 63.
62. De Palmol, Criss VR, Lubon NL. The preperation of fibrinogen concentrate for use as fibrin glue by four different methods. *Transfusion*, 33(9): 717-720, 1993.
63. Burnout Radosevich M, Burnout T. Chromatographic preperation of a therapeutic highly purified von Willebrond factor concentrate from human cryoprecipitate. *Vox Sanguinis* 62(1): 1-11, 1992.
64. Quiros J, Gonzalez Cabrero J, Egido J, Herrero Beaument G, Martinez Montero JC. Beneficial effect of fibronectin administration on chronic nephritis in rats. *Arthritis & Rheumatism* 33(5): 685-692, 1990 May.
65. Heselvik JF, Bloomback M, Brodin B, Maller R. Coagulation, fibrinolysis and kallikrein systems in sepsis : relation to outcome. *Critical Care Medicine* 17(8): 724-733, 1989 August.
66. Holman JM, Jr Saba TM, Lewis E. Effect of fibronectin - risk human cryoprecipitate on fluid volume requirements in sheep during postoperative sepsis. *Journal of Trauma* 28(5): 571-581, 1988.
67. Hesselvik F, Brodin B, Carlsson C, Cedergren B, Lorfeldt L, Lieden G. Cryoprecipitate infusion fails to improve organ function in septic shock. *Critical Care Medicine* 15(5): 475-483, 1987.
68. Stevens LE, Clemmer TD, Laub RM, Miya F, Rabbins L. Fibronectin in severe sepsis. *Surgery, Gynecology and Obstetrics*, 162(3): 222-228, 1986.
69. Ragni MV, Lewis JH, Sperno JA, Bontempo FA. Plasma fibronectin levels in clinical disease states and after cryoprecipitate infusion. *Thrombosis and Haemostasis*. 52(3): 321-324, 1984.
70. Rodgers GP, Heymech GJ. Cryoprecipitate therapy in aminotic fluid embolization. *Am J Med.*, 76(5): 916-920, 1984.
71. Zemel D, Koomen GC, Struijk DG, Kredict RT. Fibronectin during CAPD related peritonitis. No indications for intraperitoneal production. *Blood Purification*, 11(6): 378-383, 1993.

72. William E Paul. *Fundamental Immunology*, Raven Press, New York, 1989 : 781-802.
73. Owen CW, Alexander JW, Sramkoski M, Babcock GF. Rapid whole blood microassay using flow cytometry for measuring neutrophil phagocytosis. *J Clin Microbiol.*, 30(8): 2071-2076, 1992.
74. Gries E, Kopp J, Thomas U, Kohlmann H. Regulation of intraperitoneal and intravascular coagulation and fibrinolysis related antigens in peritoneal dialysis. *Thrombosis and Haemostasis* 63(3): 356-360, 1990.
75. Anwor N, Hutchison AJ, Manos J, Uttley L, Brenchley P, Gokal R. Peritoneal dialysate IgG/C₃ levels do not predict susceptibility to peritonitis. *Perit Dial Int.*, 16(2): 154-157, 1996.
76. Pettila J, Salo M, Peltola O. Plasma fibronectin concentrations in blood products. *Intensive Care Medicine* 16(1): 41-43, 1990.
77. Pammier CG, Inada S, Fries LF, Takahashi T, Frank MM, Brown FJ. Plasma fibronectin enhances phagocytosis of opsonized particles by human peripheral blood monocytes. *J Exp Med.*, 157: 1844-1854, 1983.
78. Rozulska B, Wadstom T. Interaction of fibronectin and fibronectin binding protein (FnBP) of staphylococcus aureus with murine phagocytes and lymphogates. *FEMS Microbiology Immunology* 4(6): 305-315, 1992.
79. Weber MH, Hörl WH. Altered cellular host defence in malnutrition and uremia. *Contrib Nephrol.*, 98: 105-111, 1992.
80. Üstün H. Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi Peritonitli Hastalarda Sefodizimin Diyalizat Nötrofil ve Monosit Spontan Migrasyonu ve Kemotaksisine Etkisi. *Uzmanlık Tezi, Antalya*, 1996: 21-22.
81. Davies JS, Suassuna J, Ogg CS, Cameron JS. Activation of immunocompetent cells in the peritoneum of patients treated with CAPD. *Kidney International* 36(1989): 661-668.
82. Chatenoud L, Jungers P, Latscha BC. Immunological considerations of the uremic and dialyzed patients. *kidney International* 45; Suppl.44 (1994): 92-94.
83. Vanholder R, Ringoir S, Dhondt A, Hakim R. Phagocytosis in uremic and hemodialysis patients. A prospective and cross sectional study. *Kidney International* 39(1991): 320-327.
84. Harvey DM, Sheppard KJ, Magon AG, Fletcher J. Effect of dialysate fluids on phagocytosis and killing by normal neutrophils. *J Clin Microbiol.*, 25(8): 1424-1427, 1987.

ADP 11 1996
 LIBRARY OF THE
 UNIVERSITY OF GANES